

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**BIOMECÁNICA DE LA LOCOMOCIÓN EN UN MODELO EXPERIMENTAL  
DE HEMISECCIÓN MEDULAR CERVICAL**

Tesis Doctoral presentado por la licenciada:

**ELISA LÓPEZ DOLADO**

para optar al grado de:

**DOCTOR EN MEDICINA**

Director:

Dr. JORGE EDUARDO COLLAZOS CASTRO

Laboratorio de Reparación Neural y Biomateriales

Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo

Co-Director:

Prof. Dr. EXUPERIO DÍEZ - TEJEDOR

Catedrático del Departamento de Medicina, UAM

Servicio de Neurología del Hospital La Paz de Madrid

**Madrid, 2012**



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADP</b>	= adenosín difosfato
<b>AP</b>	= antero-posteriores
<b>ATP</b>	= adenosín trifosfato
<b>AVD</b>	= actividades de la vida diaria
<b>CPG</b>	= generador central de pautas
<b>DA</b>	= dextran alexa 488
<b>DLF</b>	= funículo dorsolateral
<b>DPL</b>	= días después de la lesión
<b>DRG</b>	= ganglio de la raíz dorsal
<b>DTMR</b>	= Dextran-tetrametil-rodamina
<b>EMG</b>	= electromiográfico/a, electromiograma
<b>FB</b>	= fast blue
<b>FL</b>	= fascículo largo del TB
<b>F Lat</b>	= fascículo lateral de TB
<b>FM</b>	= fascículo medial del TB
<b>F<sub>x</sub></b>	= fuerzas globales de propulsión
<b>F<sub>y</sub></b>	= fuerzas globales de soporte
<b>GL</b>	= gastrocnemio lateral
<b>GRFs</b>	= fuerzas de reacción del suelo
<b>H&amp;E</b>	= hematoxilina-eosina
<b>HRP</b>	= Peroxidasa de rábano (Horseradish peroxidase)
<b>HS</b>	= posttest de Holm-Sidak
<b>5-HT</b>	= serotonina
<b>IN</b>	= interneurona
<b>IPS</b>	= imágenes por segundo
<b>LME</b>	= lesión medular espinal
<b>LO</b>	= fibras lentas oxidativas
<b>MAD</b>	= miembro anterior derecho
<b>MAI</b>	= miembro anterior izquierdo
<b>MMSS</b>	= ambos miembros superiores
<b>MN</b>	= motoneurona
<b>MPD</b>	= miembro posterior derecho

**MPI** = miembro posterior izquierdo  
**MS** = miembro superior  
**NE** = noradrenalina  
**NRL** = núcleo reticular lateral  
**OTG** = órganos tendinosos de Golgi  
**PD** = pares diagonales  
**Pi** = fosfato  
**pps** = pulsos por segundo  
**RG** = fibras rápidas glucolíticas  
**RLM** = región locomotriz mesencefálica  
**ROG** = fibras rápidas oxidativas  
**SBS** = Síndrome de Brown-Séquard  
**SEM** = error estándar de la media  
**SNC** = sistema nervioso central  
**Srt** = sartorio  
**St** = semitendinoso  
**TB** = tríceps braquial  
**TCE** = tracto corticoespinal  
**VL** = vasto lateral  
**VLF** = funículo ventrolateral  
 **$\chi^2$**  = test Chi-cuadrado

ÍNDICE	Nº de página
1 RESUMEN.....	1
2 INTRODUCCIÓN.....	7
2.1 Métodos de estudio y características generales de la locomoción animal y humana .....	9
2.2 Bases anatomofisiológicas del movimiento animal .....	16
2.2.1 El músculo y las motoneuronas como generadores del movimiento .....	17
2.2.2 Tipos de movimiento y control neural de la locomoción en mamíferos cuadrúpedos.....	28
2.2.3 Papel de los receptores de carga en el control neural de la locomoción.....	36
2.2.4 Morfología y fisiología del tríceps braquial y biomecánica del miembro anterior durante la locomoción cuadrúpeda y bípeda .....	38
2.3 Particularidades de la lesión medular cervical .....	41
2.3.1 Localización longitudinal de la lesión cervical y deficiencias resultantes.....	42
2.3.2 Síndrome de Brown-Séquard: relevancia clínica y utilidad experimental.....	44
3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	49
4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	53
4.1. Procedimientos generales .....	55
4.1.1 Sujetos experimentales .....	55
4.1.2 Hemisección medular cervical .....	55

4.2 Evaluación biomecánica de la locomoción.....	56
4.2.1 Dinámica .....	57
4.2.2 Cinemática .....	59
4.2.3 Análisis y procesamiento de los datos biomecánicos .....	62
4.3 Histología.....	63
4.3.1 Evaluación de la muerte de motoneuronas del tríceps braquial .....	63
4.3.2 Evaluación de la zona de lesión.....	65
 5 RESULTADOS .....	 67
5.1 Daño histológico y biomecánica de la locomoción tras la hemisección medular C6. Experimento 1.....	 69
5.1.1 Verificación de la lesión medular .....	69
5.1.2 Supervivencia de las motoneuronas del tríceps brachii .....	70
5.1.3 Evolución de la masa corporal .....	71
5.1.4 Uso relativo de las extremidades .....	74
5.1.5 Dinámica .....	75
5.1.5.1 Fuerzas de soporte .....	76
5.1.5.2 Fuerzas de propulsión y frenado .....	77
5.1.5.3 Fuerzas de estabilización lateral .....	78
5.1.6 Cinemática .....	79
5.1.6.1 Parámetros temporales del ciclo de marcha .....	79
5.1.6.2 Parámetros geométricos .....	87
5.2 Validación de los hallazgos del primer experimento y análisis de la recuperación en la fase aguda de la lesión medular .....	 100
5.2.1 Área de lesión y supervivencia de las neuronas del TB .....	101
5.2.2 Uso relativo de las extremidades .....	102
5.2.3 Dinámica .....	103

5.2.3.1	Fuerzas de soporte .....	104
5.2.3.2	Fuerzas de propulsión y frenado .....	108
5.2.4	Cinemática .....	110
5.2.4.1	Parámetros temporales del ciclo de marcha .....	110
5.2.4.2	Parámetros geométricos .....	117
5.3	Integración de la locomoción: déficit focales con repercusión global sobre la locomoción .....	123
6	DISCUSIÓN .....	129
6.1	Deficiencias segmentarias, focales y permanentes después de la hemisección medular .....	133
6.2	Compensaciones globales y dinámicas que optimizan la función motriz residual .....	136
6.3	Origen neural de las alteraciones locomotoras detectadas en el miembro anterior de la rata tras la hemisección .....	139
6.4	Naturaleza de los mecanismos de recuperación y readaptación funcional tras una lesión medular .....	142
6.5	Algunas consideraciones metodológicas .....	144
6.6	Utilidad de los hallazgos en la lesión medular humana y perspectivas .....	146
7	CONCLUSIONES .....	149
8	BIBLIOGRAFÍA .....	153





*RESUMEN*



## **1. RESUMEN**

**INTRODUCCIÓN:** En los humanos, alrededor del 55 % de las lesiones de la médula espinal ocurre en los segmentos cervicales, y algo menos del 70 % de ellas son incompletas. Las lesiones cervicales producen deficiencias motoras crónicas en los miembros superiores como consecuencia de la muerte neuronal segmentaria y la interrupción de los axones descendentes que proyectan a los segmentos medulares caudales al epicentro lesional. El miembro anterior de la rata es homólogo al miembro superior humano y presenta una organización neuromuscular bastante parecida. Estas semejanzas se extienden a la organización de la médula espinal y fundamentan la utilización de la rata para desarrollar modelos de lesión medular cervical que reproduzcan la fisiopatología de las lesiones humanas y permitan estudiar los cambios de los circuitos neurales y las alteraciones que tienen lugar tras una lesión, así como evaluar estrategias terapéuticas dirigidas a restituir las funciones perdidas. No obstante, estas investigaciones son complejas porque la anatomía y la fisiología de los circuitos medulares cervicales se conoce sólo parcialmente y también porque la recuperación funcional se confunde con las compensaciones comportamentales, a menos que se utilicen métodos de evaluación apropiados. En este trabajo se presenta un nuevo modelo de hemisección medular cervical en rata, consistente en realizar la lesión en la porción caudal del segmento C6, justo al inicio de la columna de motoneuronas del tríceps braquial y del flexor ulnar del carpo.

**HIPÓTESIS:** La hemisección C6 debería causar pérdida severa y permanente de la fuerza extensora del codo y de la flexión de la muñeca, debido a que interrumpiría los tractos axonales que descenden del encéfalo y también los del sistema propioespinal cervical premotoneuronal, cuyos somas se localizan principalmente en C3 y C4. Tales trastornos funcionales deberían ser evidentes durante la locomoción.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Se utilizaron ratas Wistar macho adultas, distribuidas en grupo control o con hemisección medular C6. La locomoción se evaluó previamente a la lesión y desde

los 5 a los 180 días postlesión, midiendo las fuerzas de reacción del suelo sincronizadamente con el movimiento corporal registrado por cámaras de alta velocidad. En total, fueron analizados alrededor de 100 parámetros biomecánicos, lo que permitió diferenciar entre deficiencias primarias y compensaciones. Además se realizaron estudios anatómicos para cuantificar la extensión de la lesión y la posible muerte neuronal, mediante tinción de la médula con hematoxilina – eosina y marcaje retrógrado de las motoneuronas con aminoestilbamidina, respectivamente. Para el análisis estadístico, los valores medios, máximos, mínimos y el rango de los parámetros cinéticos y cinemáticos se compararon mediante ANOVA y el posttest de Holm-Sidak. Algunas variables debieron ser comparadas mediante la prueba *t de Student*. El test Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) se utilizó para comparar la proporción de ciclos cuya regularidad era distinta de 1. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativos si la  $p < 0.05$ . Las regresiones se llevaron a cabo con el programa SigmaPlot 9.0.

**RESULTADOS.** El hallazgo más relevante fue la pérdida grave, precoz y persistente de más del 50 % de la fuerza extensora del codo durante el apoyo del miembro anterior ipsilateral (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de Holm-Sidak  $p < 0.05$ ), pero no del miembro posterior del mismo lado. Como consecuencia, los animales eran incapaces de soportar y elevar el cuerpo cuando la extremidad anterior estaba apoyada. También se observó pérdida crónica de la flexión de la muñeca durante la fase aérea (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de Holm-Sidak  $p < 0.05$ ), momento de mayor demanda funcional de los músculos flexores. A pesar de estos trastornos, los animales mostraban una locomoción muy efectiva, gracias a múltiples mecanismos compensatorios en la organización temporal y geométrica del ciclo de marcha. Los datos biomecánicos permitieron también marcar el límite entre periodo agudo, inmediatamente tras la hemisección y correspondiente al shock medular, y el periodo crónico, en el que la debilidad corporal general ya no era evidente.

**CONCLUSIONES:** 1) La hemisección medular C6 produce pérdida de fuerza extensora en el miembro anterior ipsilateral, que se traduce en disminución de la extensión del codo e incapacidad para el soporte durante la fase de apoyo del ciclo locomotor. También limita la flexión de la

muñeca durante la fase aérea, siendo ambas deficiencias primarias, focales y permanentes. 2) Estos trastornos alteran la dinámica de la locomoción, obligando a los animales a poner en marcha diversas compensaciones para lograr desplazamiento efectivo. 3) La mayoría de compensaciones pueden entenderse en términos de control postural de las extremidades y de mantenimiento de la velocidad y el balance corporal. 4) A diferencia de la extremidad anterior, el miembro posterior ipsilateral apenas se afecta tras la hemisección durante la tarea evaluada. Esto implica que la lesión afecta de forma diferente a los segmentos medulares inmediatamente infralesionales (C7-C8) y a los que están más alejados, localizados en la región lumbar. 5) Los signos de afectación neuromotriz a los 5 y 10 días postlesión marcan la fase aguda y muestran un punto de inflexión concordante con la salida del shock medular.



# *INTRODUCCIÓN*





## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Métodos de estudio y características generales de la locomoción animal y humana.

La observación del movimiento animal puede realizarse desde múltiples perspectivas: como experiencia estética (baste imaginar el colorido, la suavidad y la elegancia del aleteo de una mariposa); como fenómeno biológico (cómo los diferentes organismos vivos han ido ajustando sus estructuras a lo largo de la evolución para moverse con mayor perfección y menor coste energético); o como fenómeno físico, describiéndolo en términos de fuerza, trabajo y energía, lo que nos permite deducir el papel funcional que las distintas estructuras de los sistemas neuromotores tienen en la génesis, mantenimiento, ejecución y finalización del movimiento, conocer sus patrones y, a partir de ellos, predecirlos o emularlos. El patrón locomotor típico de cada especie animal está determinado y es consecuencia de su morfología corporal y del entorno en que se desenvuelve, de modo que estructura corporal y sistema nervioso han coevolucionado. Así, cambios en la orientación o en la disposición articular de parte o todas las extremidades traen consigo nuevos patrones motores con sus restricciones y potencialidades<sup>1,2</sup> y modificaciones en la organización del sistema nervioso<sup>3</sup>.

Los movimientos de los seres vivos son el objeto de estudio de la *kinesiología*, ciencia que tiene en cuenta la estructura corporal y las leyes físicas que rigen el movimiento de cada especie en función de su entorno vital. La primera descripción en este sentido que se conoce la realizó *Aristóteles de Stagira* (384-322 a.C.) en Macedonia, proponiendo algunas leyes que lo regían y permitían predecirlo. Muchos siglos más tarde, *Leonardo da Vinci* (1452-1519) realizaría detallados estudios sobre la anatomía del hombre en movimiento y establecería las leyes básicas que rigen el vuelo de los pájaros. El primer libro que podemos considerar propiamente de biomecánica, “*De Motu Animalium*”, se lo debemos a *Giovanni Alfonso Borelli* (1608-1679), y describe el sistema musculoesquelético humano utilizando los principios de la mecánica,

mencionando ya los efectos de palanca de las extremidades y la influencia de las fuerzas de fricción de agua y aire sobre el movimiento. Incluye además un cálculo de la situación del centro de masas del cuerpo humano según la postura corporal. Los avances de la mecánica clásica fueron enriqueciendo progresivamente la disciplina, que se desarrolla sin precedentes a partir de 1967, año en que la UNESCO organizara el primer congreso de biomecánica<sup>4</sup>. Y aunque su uso como herramienta de estudio del movimiento animal tiene una dimensión más modesta que su aplicación en otras áreas como el deporte, ha arrojado ya avances notorios en la investigación biológica y robótica y su papel en el área biomédica es cada vez más relevante.

En la vida cotidiana todos observamos consciente o inconscientemente cómo se mueven nuestros semejantes y utilizamos esos datos observacionales para relacionarnos con ellos. La inspección cualitativa de la marcha en pacientes con enfermedades neurológicas y ortopédicas resulta indispensable para su correcto diagnóstico y tratamiento, siendo el análisis tanto más fiable cuanto mayor es la pericia del observador. Por ello, se han ido desarrollando diferentes escalas clínicas semicuantitativas, que buscan resultar reproducibles y arrojar datos comparables entre sí<sup>5,6,7</sup>. Como ejemplo cabe citar la escala WISCI- II que evalúa la capacidad locomotriz residual en pacientes con lesión de la médula espinal (LME) incompleta<sup>8</sup>. En zoología y clínica veterinaria se han desarrollado también escalas de marcha para distintas especies, que aunque reducen la variabilidad interobservador, no eliminan el sesgo de la subjetividad y aportan poca información que pueda integrarse en el contexto fisiológico de los animales<sup>9</sup>.

Los roedores son los más utilizados como modelo de estudio de la lesión medular y la locomoción es una de las funciones más evaluadas. En la marcha resultante, deficiencias primarias y compensaciones para mejorar la función se presentan juntos y las escalas semicuantitativas no permiten diferenciar entre ellos, como tampoco diferencian entre compensación y la mejoría funcional debida a recuperación de los déficit<sup>10,11</sup>. Con frecuencia, no se le presta suficiente atención a que ser bípedo o cuadrúpedo influye considerablemente en la capacidad locomotriz después de una lesión, de manera que la extrapolación no es directa. Es además imprescindible contar con herramientas cuantitativas precisas para investigar aspectos no completamente aclarados de la fisiología motora, para establecer correlaciones entre daño neural y trastornos motrices

resultantes y para evaluar los efectos de las estrategias de reparación neural sobre la recuperación motriz. Se optó en este trabajo por el análisis biomecánico de la locomoción de la rata adulta como método de definir y cuantificar los parámetros físicos que la rigen, tanto en condiciones de normalidad como en presencia de una LME, con el fin de alcanzar precisión en los datos y plantear con garantía alguna explicación fisiológica para los trastornos observados tras la lesión medular espinal (LME) cervical.

La cinemática, la cinética y la electromiografía han arrojado información consistente sobre los mecanismos de control de la locomoción normal y patológica en gatos<sup>12,13</sup>, humanos<sup>14, 15, 16, 17, 18</sup> y en menor medida, roedores<sup>19, 20, 21, 22, 23, 10, 24</sup>. Un buen número de trabajos ha estudiado la locomoción en animales con una lesión torácica a los que se soportaba el cuerpo y elevaban las extremidades posteriores mediante un arnés, bajo el cual se había colocado un tapiz rodante que las desplaza hacia atrás. Estos datos cinemáticos y electrofisiológicos obtenidos sincronizadamente permitieron elucidar los automatismos locomotores generados por las redes de interneuronas espinales y sus mecanismos de activación<sup>25, 26, 27, 13</sup>. Sin embargo, la *locomoción con significado comportamental*<sup>28, 10</sup>, requiere, además de sinergias automáticas de flexión y extensión de las extremidades producidas por la médula espinal, pautas neurales que inicien o detengan la marcha según el contexto, señalicen la adquisición de la postura de partida, generen la fuerza suficiente para mantener elevado el centro de gravedad, controlen el balance durante el desplazamiento y adapten la marcha al contexto, modificando velocidad, dirección y estilo en función de posibles perturbaciones.

La *cinemática* describe el movimiento en términos de desplazamiento, dirección, velocidad y aceleración, basándose en las leyes de la mecánica clásica<sup>29</sup>. Los datos se obtienen mediante registros de vídeo, cinerradiografía, rastreo de marcadores que emiten luz, o detectores electromagnéticos. Actualmente se cuenta con tecnología de alta resolución temporal que incluso permite la adquisición y posterior análisis en dos o tres dimensiones de eventos motores muy rápidos. Colocando marcadores o sensores sobre aquellas estructuras cuyo movimiento se quiere estudiar -por ejemplo, los ejes de las articulaciones de las extremidades- se determinan su curva de desplazamiento, velocidad y aceleración, además de las relaciones temporales y geométricas entre

las distintas partes del cuerpo del animal en movimiento. Los datos serán suficientemente fiables si la resolución temporal del sistema permite adquirir al menos 10 eventos de la secuencia estudiada<sup>30</sup>,<sup>31</sup> y cuanto menos se desplacen los marcadores de la estructura a la que señalizan durante su adquisición. Mediante *cinerradiografía* se puede filmar el esqueleto mientras se ejecuta una secuencia motora, lo que elimina los errores debidos al desplazamiento de la piel con respecto de las articulaciones en especies como la rata. Sin embargo, los sistemas disponibles actualmente en el mercado tienen menor resolución que el vídeo convencional y sólo abarcan pequeñas superficies corporales, por lo que su uso es limitado<sup>32</sup>.

En términos cinemáticos, *el ciclo locomotor* consta de dos partes: fase de apoyo y fase aérea. En los cuadrúpedos, las extremidades alternan en pares diagonales, existiendo periodos de doble y triple apoyo de duración variable en función de la velocidad<sup>33</sup>. Las extremidades que están en contacto con el suelo durante la *fase de apoyo* deben generar fuerza suficiente para soportar y propulsar el cuerpo. En la *fase aérea*, las extremidades se levantan, flexionan y extienden y finalmente se apoyan de nuevo para iniciar el ciclo siguiente. Y mientras que los movimientos de flexo-extensión coordinada entre las tres articulaciones principales de cada extremidad durante la fase aérea apenas varían con la velocidad<sup>34, 35</sup>, la duración de la fase de apoyo sí se modifica. En condiciones de normalidad, los mamíferos terrestres se desplazan a velocidades variables utilizando diferentes tipos de locomoción -marcha, trote, carrera y galope- optimizados para asegurar el menor gasto energético a una velocidad óptima según el tamaño del animal y su metabolismo<sup>36</sup>. Cada estilo tiene sus características mecánicas y se apoya en pautas específicas de actividad neuromuscular. La selección natural parece haber primado en muchas especies los patrones motores más rápidos<sup>2</sup>, y aunque por regla general, a mayor tamaño corporal mayor velocidad, animales muy grandes como los elefantes o rinocerontes alcanzan velocidades máximas menores. El tipo de locomoción queda definido por la relación que existe entre la duración de la fase de apoyo y la del ciclo completo, conocido como *factor de utilización* -del inglés “duty factor”-. Tanto cuadrúpedos como humanos bípedos pasan de marcha a carrera cuando el factor de utilización está en torno a 0.5. Marcha y trote tendrán un factor de utilización  $>0.5$  y galope y carrera  $<0.5$ . Existen dos estrategias para incrementar la velocidad: 1) aumentar la frecuencia de pasos, o cadencia; 2)

aumentar su longitud, o distancia que recorre la extremidad entre un apoyo y el siguiente. Lo habitual a velocidades medias -marcha y trote- es aumentar la cadencia, lo que implica que se acorte la fase de apoyo y por ende el ciclo locomotor<sup>37</sup>. El apoyo de una extremidad por delante del centro de masas frena el cuerpo y se pierde energía cinética, para cuyo ahorro existen dos estrategias: la *estrategia pendular* y la *estrategia de rebote*<sup>38</sup>. Uno de los principales determinantes de la coordinación entre las extremidades es la estabilidad postural<sup>12</sup>. A velocidades bajas, los cuadrúpedos se desplazan en posiciones dinámicas estables, en las cuales el centro de gravedad proyecta dentro de la base de sustentación que forman los puntos de contacto de las patas con el suelo. A velocidades altas, utilizan posiciones dinámicas inestables, caracterizadas por que el centro de gravedad proyecta fuera de la base de sustentación o área de apoyo.

La *cinética o dinámica* analiza el movimiento mediante la medición directa de las fuerzas asociadas. Aunque pueden implantarse sensores en los tendones para medir directamente la fuerza muscular -esta técnica tiene una aplicación restringida en animales experimentales- el método más utilizado es el registro de las fuerzas de reacción del suelo (GRFs), utilizando plataformas que tienen transductores mecano-eléctricos colocados en sus extremos y que generan señales proporcionales a las fuerzas que las extremidades aplican al apoyar sobre la plataforma durante la marcha. Utilizando varias plataformas puede estudiarse la fuerza de cada extremidad aislada e incluso estimarse la contribución de cada segmento de la misma mediante cálculos de dinámica inversa, además de deducirse mediante integración la aceleración, velocidad y desplazamiento del centro de masas, e inferir el trabajo, la potencia y la energía empleadas. La fiabilidad de los datos dependerá de la resolución de los transductores de fuerza utilizados y de una calibración muy cuidadosa del sistema antes de la adquisición de los datos<sup>38</sup>, a menos que se utilicen plataformas con sensores piezoeléctricos que no requieren ser calibrados por el usuario. De la fuerza registrada, el componente vertical representa el soporte de peso corporal; el horizontal hacia delante, la propulsión y el horizontal hacia atrás, el frenado; y los componentes laterales representan fuerzas de estabilización. En general, la rata reparte equitativamente su peso entre las extremidades anteriores y posteriores, de manera que las fuerzas de soporte son parecidas, si bien las anteriores frenan más y las posteriores propulsan más, con una transición suave entre frenado y propulsión<sup>21</sup>.

Utilizando plataformas dinamométricas se ha podido también estudiar cómo se mantiene el balance durante el trote en los perros. El apoyo en pares diagonales da estabilidad mecánica, pues el impulso vertical se redistribuye entre el miembro anterior y el posterior del par apoyado en cada ciclo. Las dos extremidades del par actúan como palancas, actuando en sentido opuesto en el plano horizontal y comprimiendo el tronco para evitar oscilaciones en el plano sagital<sup>39</sup>.

Las fuerzas que causan el desplazamiento las ejercen los músculos bajo control neural, por lo que los *estudios electrofisiológicos* informan sobre las pautas de activación subyacentes. La *electromiografía* permite registrar la actividad de los músculos mientras se está produciendo el movimiento. El equipamiento básico necesario incluye electrodos de registro, cables o algún tipo de soporte inalámbrico que transmita la señal eléctrica a un amplificador, un sistema de filtro para conseguir que dicha señal eléctrica tenga suficiente calidad, y un sistema de registro y almacenamiento de los datos. Este método se ha usado extensamente para estudiar la locomoción en animales no anestesiados<sup>34, 40, 41, 42</sup> y ha servido para definir subfases dentro del ciclo locomotor: F y E1 dentro de la fase aérea y E2 y E3 dentro de la fase de apoyo. En la *fase F*, la extremidad se eleva del suelo y flexiona; en la *E1* se extiende en el aire hasta volver a apoyarse; la *fase E2* se caracteriza por un progresivo reclutamiento de la musculatura extensora antigravitatorio de la extremidad con mínima flexión; en la fase E3, la fuerza extensora de extremidad apoyada eleva el cuerpo hasta que se produce un nuevo despegue<sup>43</sup>.

Analizando la activación de los músculos flexores y extensores del codo durante la locomoción cuadrúpeda, se ha encontrado una gran similitud con la actividad muscular del miembro posterior<sup>19, 44</sup>. Así, el *bíceps braquial* se activa desde el final del apoyo (E3), antes de perder contacto con el suelo, hasta aproximadamente la mitad de la fase aérea (F). Los haces del *tríceps braquial* (TB) se activan más selectivamente: poco antes del contacto con el suelo (E1) se registra mayor actividad en la porción proximal del *fascículo largo* (FL), y durante el apoyo (E2 y E3) se activan tanto el FL como el *fascículo lateral* (F lat). Por su parte, el fascículo medial participa principalmente en el control postural<sup>45</sup>. Se ha comprobado que las diferencias en la configuración anatómica del F lat y el FL del TB de la cabra se corresponden con un diferente patrón de activación durante la locomoción y el salto y, mientras que el F lat se estira en E2 y luego

se contrae en E3, el FL se contrae con mínimo acortamiento en ambas, es decir, a lo largo toda la fase de apoyo<sup>46,47</sup>. Este mismo fenómeno aparece en el *tríceps sural* humano, músculo multipenniforme y biarticular que posee un vientre biarticular, *el gastrocnemio interno*, que se activa de modo similar al F lat y otro monoarticular, el *sóleo*, con activación similar al FL<sup>48</sup>.

Para aumentar la velocidad de desplazamiento se necesita una mayor aplicación de fuerza extensora y más recursos neuromusculares. Los extensores forman una sinergia antigravitacional tanto en bipedestación estática como durante la fase de apoyo del ciclo locomotor, mientras que los flexores son los artífices del avance de las extremidades y el cuerpo durante la fase aérea. Al aumentar la velocidad, el tiempo de activación de los extensores se acorta y su amplitud aumenta, mientras la de los flexores apenas cambia<sup>49</sup>. Algunos músculos biarticulares reducen a una sus activaciones durante el ciclo<sup>50, 40</sup>, y se incrementa la producción de fuerza por músculos sinérgicos con unidades motoras rápidas<sup>51, 52</sup>. A medida que aumenta la velocidad, tanto el F lat como el FL del TB de la cabra generan mayor cantidad de fuerza, pero a pesar de ello, las diferencias en su patrón de activación se mantienen<sup>46</sup>.

La marcha bípeda como forma de desplazamiento habitual es el hito principal de la evolución humana, la marca de identidad de nuestra especie frente a otros primates. En términos cinemáticos, contrariamente a lo que cabría esperar, el patrón de movimiento de las extremidades apenas se ha modificado. En bonobos y chimpancés se puede trazar una línea continua entre el desplazamiento bípedo y el cuadrúpedo, de modo que se comportarán como bípedos en condición de lesión de los miembros anteriores o si los cambios en el ecosistema lo requieren<sup>53</sup>. El aumento relativo de fuerza y longitud de los miembros posteriores, la transformación progresiva hacia pies y manos prensiles y las modificaciones en la posición del centro de gravedad resultaron necesarias para la vida arbórea, pero fue la optimización energética la que determinó finalmente la morfología y la biomecánica típicamente humanas. Los primates iban siendo capaces de mantenerse erectos con la cabeza elevada gracias a que sus miembros posteriores se fortalecieron lo suficiente como para soportar y acelerar el peso corporal sin el auxilio de los miembros anteriores, que pudieron progresivamente especializarse en otras tareas como explorar el entorno, comer, manipular objetos o reequilibrar el cuerpo durante la locomoción<sup>54</sup>. Los miembros anteriores de los primates y los

superiores humanos funcionan como péndulos en la locomoción bípeda: la fuerza con la que oscilan depende de la longitud del brazo y del impulso que recibe éste desde los músculos axiales en función de la velocidad<sup>4, 54</sup>. A pesar de la obvia diferencia que supone soportar o no peso con el miembro anterior, el mantenimiento de patrones coordinados cruzados en las cuatro extremidades durante la locomoción a lo largo de las distintas especies incluido el humano, remite a un sustrato neural común. Las homologías no solo ocurren en la locomoción, pues el repertorio motor de la rata también incluye conductas de agarre y manipulación de comida u objetos con la garra del miembro anterior, para lo cual debe soportar su peso sobre los miembros posteriores y adquirir transitoriamente una postura bípeda estática<sup>55</sup>.

En las últimas dos décadas se ha generalizado en las ciencias médicas el uso de dispositivos robotizados para el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades. Los robots y la realidad virtual son herramientas de gran valor para el estudio del control motor, particularmente para la investigación de los gestos motores de los miembros superiores, menos automáticos, más variados y organizados previsiblemente por circuitos neurales más complejos<sup>56, 57, 58</sup>. Trabajos recientes han abordado en la rata el estudio de las pautas neurales subyacentes al movimiento de la cabeza y el cuello<sup>59</sup> del alcance dirigido, la presa palmar y la locomoción utilizando robots e interfases neuroelectrónicas<sup>60</sup>. Las nuevas tecnologías aplicadas al análisis del movimiento permiten adquirir gran cantidad de datos biomecánicos y electrofisiológicos y aportan versatilidad y precisión. Requieren equipos caros y personal entrenado, pero su uso se ha consolidado ya gracias a que son imprescindibles para el diseño de neuroprótesis<sup>61</sup>, por lo que es previsible que se incorporen ampliamente a la investigación en neurociencias.

## 2.2 Bases anatomofisiológicas del movimiento animal.

Aunque algunas especies son sésiles, la mayoría de los animales tiene que moverse para encontrar alimento, pareja o escapar de sus depredadores, en esencia para sobrevivir, pero el desplazamiento nunca está exento de dificultades. En medio terrestre, el principal impedimento lo constituye la gravedad, pero sea cual sea el medio en que se produzca, la capacidad de desplazarse

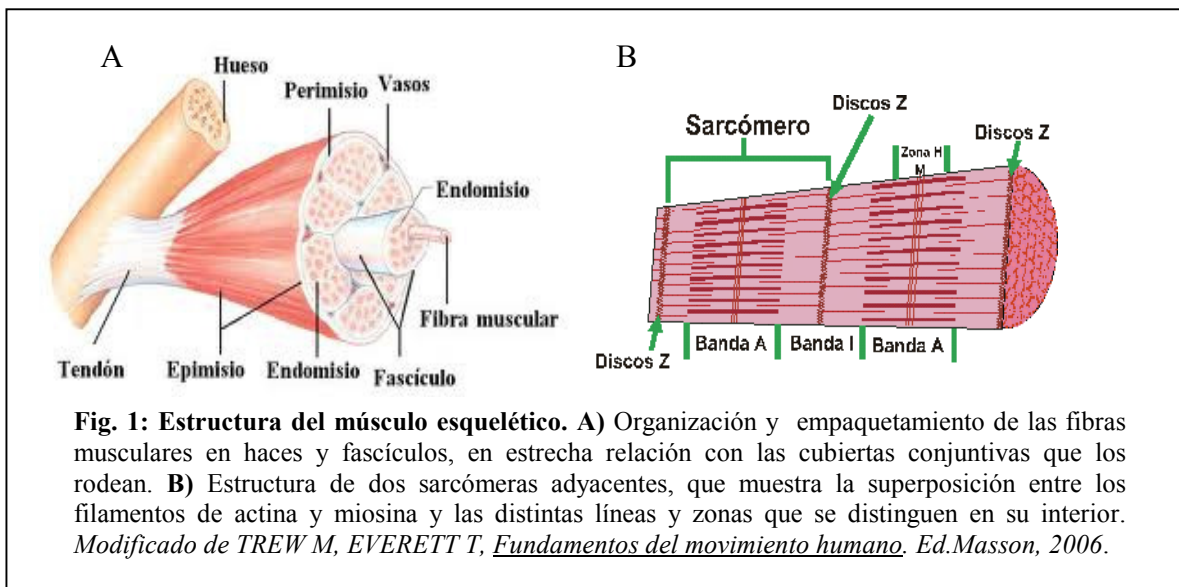


eficientemente necesita y consume una gran cantidad de energía, que aportarán los músculos al contraerse.

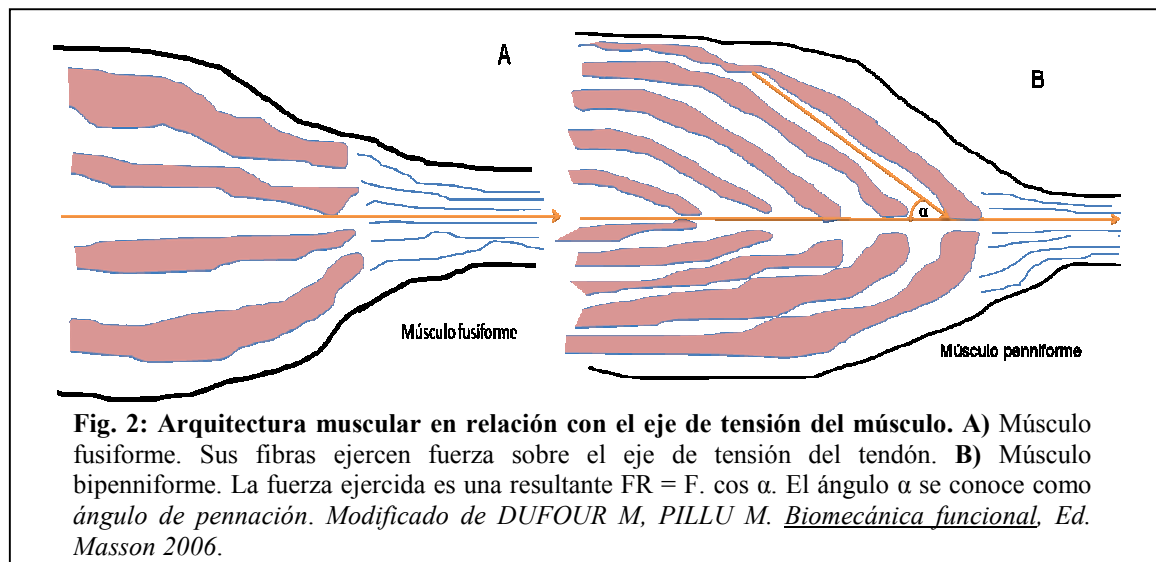
### 2.2.1 El músculo y las motoneuronas como generadores del movimiento.

La contracción muscular está en el fondo de todas las funciones vitales, incluidas las viscerales. Ciñéndonos al desplazamiento y al aparato locomotor, los músculos estriados son los encargados de generar la fuerza necesaria para mantener la postura corporal y permitir desplazamiento. Gran parte de lo que hoy sabemos sobre cómo ejercen fuerza procede de experimentos clásicos “ex vivo”, con músculos de rana y rata inmersos en una solución electrolítica similar a la fisiológica y a los que se les han aplicado diferentes protocolos de estimulación eléctrica para estudiar sus propiedades. De esta manera se ha podido confirmar que los músculos gruesos generan más fuerza que los finos, o lo que es lo mismo, que la fuerza de un músculo es proporcional a su área transversal y que el estrés máximo que puede ejercer resulta de dividir su fuerza entre el área transversal. Existen músculos de múltiples formas, longitudes y tamaños, con perfiles de estrés muy diferentes pero bien adaptados a las tareas motoras que habitualmente realizan, de modo que los distintos patrones de movimiento tienen como fin último que el desplazamiento sea, además de eficaz, económico<sup>1,2</sup>. Más allá de las diferencias, cualquier músculo estriado es capaz de contraerse, bien acortándose de modo que un segmento corporal se aproxime a otro, lo que se conoce como *contracción concéntrica*, bien durante su estiramiento, lo que se conoce como *contracción excéntrica*. Si el músculo se resiste a la elongación, en cuyo caso no se producirá desplazamiento alguno, se producirá una *contracción isométrica*.

Las propiedades contráctiles residen en una estructura jerarquizada y ordenada, cuyas unidades celulares fundamentales son las *fibras musculares*, constituida por varias subunidades, las *sarcómeras*, y agrupan en haces y fascículos, los cuales forman *músculos* (Fig. 1). La colocación de las fibras y haces dentro de cada músculo se conoce como *arquitectura muscular* y es de gran importancia biomecánica, pues determina la orientación del vector de cada una de ellas con respecto del eje global de fuerza del músculo, y por tanto su eficacia mecánica.



Según su arquitectura, describiremos los músculos como *segmentados*, si presentan bandas transversales aponeuróticas intercaladas, como el músculo recto abdominal; *fusiformes*, con dos tendones en sus extremos y fibras musculares situadas en paralelo entre sí y paralelas al eje de tracción del músculo, como el músculo sartorio; y *penniformes*, cuyas fibras musculares se encuentran inclinadas en torno a 30° en reposo con respecto del eje de tracción global del músculo, como el TB. Las distintas orientaciones de las fibras musculares en los músculos penniformes permiten diferentes acciones musculares y un mayor ahorro energético por distribución espacial de su acción mecánica<sup>62</sup> (Fig. 2). Los músculos se clasifican también según el número de articulaciones sobre las que actúan y serán *monoarticulares* si sólo actúan sobre una articulación, como el músculo braquial anterior; *biarticulares* si actúan sobre dos articulaciones, como el TB; o *poliarticulares* si actúan sobre más de dos articulaciones, como los músculos flexores y extensores de los dedos. Los músculos biarticulares de arquitectura penniforme, como el TB son los más eficientes desde el punto de vista mecánico: la distribución penniforme inclinada permite empaquetar en el mismo espacio un mayor número de fibras, que generarán una mayor cantidad global de fuerza a expensas de menor acortamiento y menor desplazamiento articular<sup>63</sup>; los músculos biarticulares suelen tener tendones largos, capaces de almacenar energía elástica y permitirle al músculo economizar energía durante su contracción<sup>2</sup>.



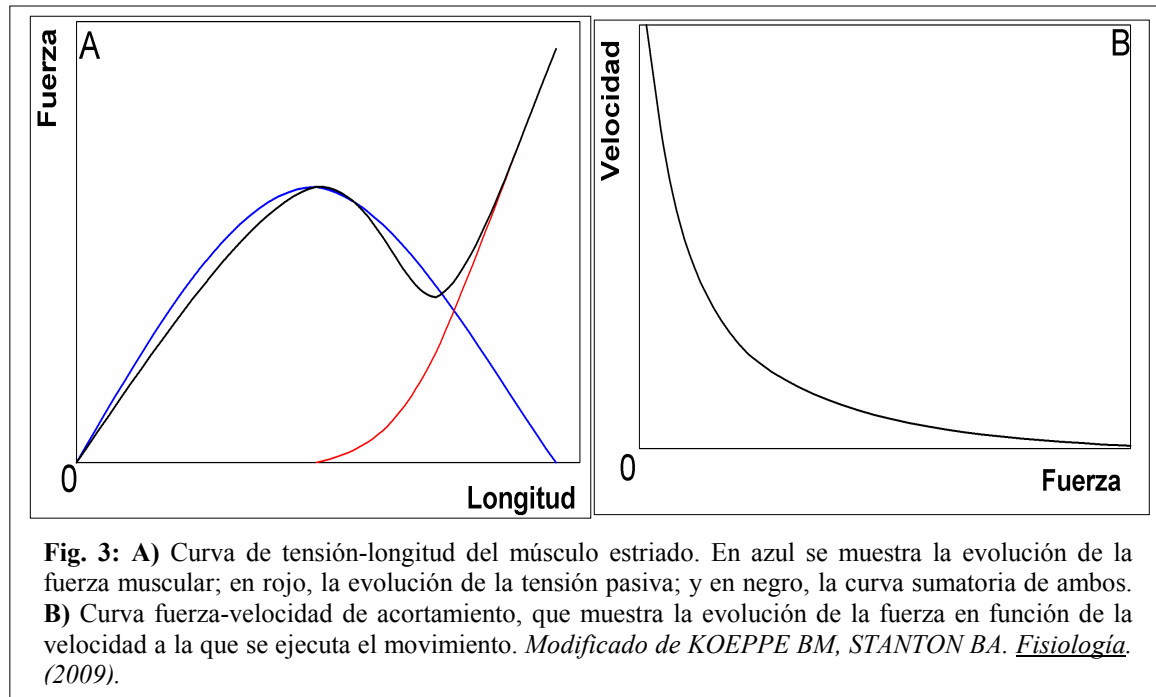
Si bien todos los músculos esqueléticos poseen un determinado perfil mecánico, lo que les caracteriza desde el punto de vista fisiológico es su contractilidad, propiedad que reside en su composición e innervación, pues las fibras musculares están constituidas por miofibrillas que se contraen ante un estímulo nervioso. Cada fibra muscular está innervada por una sola motoneurona (MN) del asta anterior de la médula espinal a través de un solo axón, pero cada MN inerva más de una fibra muscular, denominándose *unidad motora* al conjunto de una MN, su axón y todas las fibras musculares que inerva. En los mamíferos terrestres cada MN inerva una media de 300 fibras musculares, aunque el rango va desde unas pocas decenas hasta varios cientos<sup>64, 65</sup>. El tamaño y las propiedades contráctiles de la unidad motora determinan su capacidad de transformar el impulso nervioso en trabajo mecánico. Al conjunto de MNs que inervan el mismo músculo se le conoce como *núcleo motor espinal*. Y mientras a una MN la definen su morfología, su excitabilidad y la distribución de las sinapsis que recibe, a cada fibra muscular la define una velocidad de contracción, una capacidad de generación de fuerza y un grado de resistencia a la fatiga<sup>64, 66</sup>. El principal determinante del orden de reclutamiento es el tamaño de la MN y por ende el de la unidad motora, de modo que las de menor tamaño y mayor resistencia eléctrica, son las primeras en ser reclutadas. En el músculo, esto supone que las fibras de contracción más lenta, pero resistentes a la fatiga, se contraerán antes que las de contracción rápida pero fácilmente fatigables. Este fenómeno, conocido como *principio del tamaño*<sup>67,68,69,70</sup>, se cumple en general tanto para contracciones voluntarias isométricas como isotónicas excéntricas o concéntricas, e incluso en la contracción

muscular resultante de los reflejos de estiramiento<sup>71, 72</sup>. La organización y el patrón de activación de las aferencias sinápticas a las MNs también resultan vitales para establecer el umbral, la frecuencia y por tanto el orden de reclutamiento<sup>73</sup>. La práctica totalidad de los gestos motores implica activación conjunta o secuencial ordenada de varios músculos, que tendrán núcleos y unidades motoras con propiedades intrínsecas diferentes. La extensión del principio del tamaño al reclutamiento de grupos musculares podría explicar que las trayectorias de los gestos motores sean suaves y predecibles. Sin embargo, aunque dentro de todos los músculos de una cadena cinética el reclutamiento muscular se produzca siguiendo este principio del tamaño, el orden de coactivación muscular dentro de la cadena depende además de consideraciones biomecánicas como los torques de las articulaciones implicadas y el consumo energético global del gesto motor<sup>74</sup>.

Una característica importante de los músculos es su elasticidad, es decir su capacidad para recobrar su longitud inicial después de un estiramiento o acortamiento, concepto de gran importancia para comprender cómo varía la fuerza generada según la longitud. Como se muestra en la Fig. 3A, hasta que se alcanza el valor medio de su longitud máxima, la fuerza generada por un músculo es directamente proporcional a su longitud. La tensión pasiva aumenta con el estiramiento muscular a partir de entonces, de modo que la curva tensión-longitud resultante es la suma de ambos comportamientos. Por tanto, cuanto más rígido y fibroso sea un músculo, más pronunciado será el componente final. La velocidad a la que un músculo se acorta es inversamente proporcional a la fuerza que se le opone, o lo que es lo mismo, la velocidad de ejecución de un movimiento condicionará la fuerza final generada (Fig. 3B). Todo lo anterior se explica por los mecanismos que tienen lugar en la sarcómera durante la contracción muscular.

En el interior de las fibras musculares, dispuestas ordenadamente en su eje longitudinal, se encuentra la verdadera maquinaria contráctil del músculo esquelético, las *miofibrillas* (Fig. 1B). Rodean a la sarcómera dos sistemas de membranas, uno intracelular, el *retículo sarcoplásmico*, y otro en contacto con el espacio extracelular, los *túbulos T*. Ambos confluyen en hendiduras ubicadas entre las bandas A y las bandas I. La función del sistema T es la transmisión rápida del potencial de acción desde la membrana celular a todas las miofibrillas; el retículo sarcoplásmico

está relacionado con los movimientos de calcio y el metabolismo celular durante la contracción y la relajación muscular.



Cada filamento fino está compuesto por dos moléculas de *actina fibrilar* resultantes de la polimerización de *actina globular*, entrelazadas entre sí y con otras proteínas, la *tropomiosina*, la *nebulina* y la *troponina*<sup>75</sup>. Los filamentos gruesos están constituidos principalmente por *miosina*, proteína muy grande con función de motor molecular, compuesta por dos cadenas pesadas y cuatro ligeras organizadas en dos porciones helicoidales entrelazadas. Cada una de ellas tiene un extremo globular o “cabeza” y una larga “cola”. Las cabezas sobresalen, pero las colas se yuxtaponen, de modo que su zona central, desprovista de cabezas, no interactúa con la actina. Las cabezas están giradas 120° unas con respecto de las otras y poseen dos zonas diferenciadas: un *cuello o zona S<sub>1</sub>*, cuya función es reorientar y acercar los sitios de unión de la miosina a los de la actina; y una *cabeza globular o fragmento S<sub>2</sub>*<sup>76</sup>, capaz de unirse a la actina mediante un puente cruzado y provocar su deslizamiento hacia el centro de la sarcómera, generando fuerza. A este fenómeno se le conoce como *golpe de potencia* de la miosina<sup>77</sup>. La agrupación cola con cola de los filamentos de miosina condiciona una distribución bipolar centrada en la línea M que posibilita la aproximación progresiva de dos líneas Z durante la contracción muscular. En los procesos de empaquetamiento, alineamiento, andamiaje y organización de las moléculas de miosina están involucradas varias

proteínas del citoesqueleto, *titina*, *miomesina* y *proteína C*<sup>78, 79</sup>. La actina se ancla en las líneas Z mediante las proteínas  $\alpha$ -*actinina* y *capZ* y la miosina mediante la *titina*, que es además capaz de modular la expresión de determinados genes y la degradación de algunas proteínas en función de su actividad mecánica. *Nebulina* y *tropomodulina* determinan juntas la longitud final de la actina y por tanto, la cantidad de puentes actina-miosina potenciales<sup>79</sup>.

Cuando un músculo se está acortando, cada cabeza de miosina se enlaza con el sitio de unión de la actina más próximo, tira de ella centrípetamente y después se suelta para reenlazarse de nuevo en el sitio de unión adyacente de la actina, sin que ninguno de los dos filamentos modifique su longitud. Una característica clave de los motores de miosina es que el brazo de palanca formado por la cabeza y el cuello puede amplificar la fuerza, de modo que la longitud desplazada en cada ciclo es directamente proporcional al mismo. A mayor longitud del brazo de palanca, mayor velocidad de contracción. Cada puente cruzado que se deshace une una molécula de adenosín trifosfato (ATP) a la cabeza de miosina mediante su grupo  $\gamma$ -fosfato. Esta unión implica un cambio conformacional de la miosina que amplía el brazo de palanca. Tras la hidrólisis de ATP a adenosín difosfato (ADP) + fosfato (Pi), la cabeza de miosina se desplaza alrededor de 110 Armstrong sobre la actina y se genera fuerza. La liberación del Pi aumenta la afinidad de la miosina por la actina, facilitando la formación de un nuevo puente y readquiriendo su longitud inicial. En cada fibra muscular, múltiples dominios de cabezas de miosina se aparean con los filamentos de actina. En presencia de niveles normales de ATP y en reposo, la mayoría de las cabezas de miosina se encuentran separadas de la actina, por lo que ante un estímulo nervioso o eléctrico, pueden hidrolizar ATP, unirse a la actina y desplazarse. Cada filamento de actina interacciona con muchas cabezas de miosina, cuyo desplazamiento medio con respecto de la actina es de 80.000 Armstrong, lo que permite a la sarcómera pasar muy rápidamente de un estado de relajación a la contracción máxima<sup>77</sup>.

En 1957, Andrew Huxley asimiló el funcionamiento mecánico de cada uno de los puentes cruzados entre miosina y actina al de un sistema de dos resortes enlazados, que tras ser estirados, tienden a volver a una situación de equilibrio de tensiones entre ambos. La cabeza de miosina se desplaza a lo largo de la actina una distancia variable “x”, que será positiva si el desplazamiento

produce acortamiento muscular y negativa si lo que produce es estiramiento. Cada vez que se libera un puente cruzado, se recupera el equilibrio mecánico de los resortes y un nuevo puente puede crearse. La probabilidad de que se creen y se destruyan nuevos puentes, siendo “x” positivo, es tanto mayor cuanto mayor sea “x”, hasta que se sobrepasa el límite elástico de las proteínas fibrilares y estas no pueden recuperar su longitud inicial. Cuando el músculo está en contracción excéntrica, es decir, está contrayéndose en estiramiento, los valores de “x” son altos y el brazo de palanca de la miosina largo, con lo que la fuerza generada será mayor. En la contracción isométrica, un número equivalente de puentes está teniendo valores de “x” positivos y negativos, de modo que el resultado neto es que no existe desplazamiento global en el músculo, aunque sí lo haya en algunos de sus puentes cruzados. A medida que el acortamiento muscular aumenta, también lo hace el grado de superposición de las miofibrillas y aumentarán las fibrillas con valores de “x” negativos, disminuyendo la probabilidad de que se creen nuevos puentes y aumentando paralelamente la probabilidad de que se destruyan, con lo que la fuerza resultante se irá reduciendo progresivamente hasta llegar a cero.

En resumen, la tensión que cada músculo puede ejercer es directamente proporcional a la longitud de sus filamentos gruesos, en particular a los brazos de palanca de la miosina, a la fracción del área transversal que ocupan las miofibrillas y a la cantidad total y la dirección de las mismas, definidas en función del ángulo de pennación  $\alpha$  (Fig. 2B). La máxima fuerza se consigue durante la contracción excéntrica y cuando actina y miosina han establecido entre sí el mayor número posible de puentes cruzados. Si las sarcómeras están demasiado estiradas o demasiado acortadas, se establecerán menos puentes y la fuerza resultante disminuirá. Todo esto sucede siempre como respuesta a órdenes nerviosas procedentes de centros motores. Sea cual sea el origen de la orden motora, las motoneuronas (MNs) de cada núcleo motor espinal se convierten en la verdadera vía final común del sistema motor<sup>80, 81</sup>. El grado de actividad de cada unidad motora determina también la fuerza generada, en función de su *tasa de reclutamiento*, o cantidad de MNs que se activan para un determinado movimiento, y su *frecuencia de disparo*, o cantidad de estímulos que le envían al músculo en función del tiempo. En la mayoría de los músculos no es posible reclutar más del 85 % del total de sus MNs en un esfuerzo voluntario máximo, por lo que sólo aumentos discretos de la

fuerza se deben a aumento de la tasa de reclutamiento y es necesario aumentar la frecuencia de disparo para conseguir incrementos moderados o grandes de fuerza<sup>65</sup>. Además, el *umbral de reclutamiento* de la unidad motora depende de la velocidad a la que se produzca el movimiento, de modo que una contracción reclutará la gran mayoría de las MNs para producir una fuerza pequeña si es lo suficientemente rápida. A medida que un músculo va generando fuerza, el umbral de reclutamiento va disminuyendo, se reduce su umbral de excitabilidad, fenómeno que se da preferentemente en músculos ricos en fibras lentas, resistentes a la fatiga<sup>82</sup> y en las contracciones dinámicas, más que en las isométricas. Aunque la mínima frecuencia de disparo para una contracción voluntaria es en general común para todas las MNs, la máxima varía mucho de unos músculos a otros, e incluso dentro del mismo músculo en función de la velocidad<sup>83</sup>. La frecuencia de disparo de la MN disminuye exponencialmente cuando la fuerza aumenta por debajo del umbral de reclutamiento, en función del sujeto y de la tarea<sup>84</sup> y aunque es directamente proporcional a la cantidad de potenciales de acción que recibe la MN, su relación con la fuerza muscular sigue una función sigmoidea<sup>85</sup>, mientras que las propiedades metabólicas de una MN y sus fibras musculares siguen una relación lineal<sup>86, 87</sup>.

Las MNs espinales se pueden clasificar en tres tipos:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Las  $\alpha$ -MNs tienen un soma de gran tamaño y conducción axonal rápida. Inervan fibras musculares extrafusales, cuya función es generar fuerza postural o para la ejecución del movimiento. Según su tamaño, patrón de descarga, orden de reclutamiento, actividad oxidativa y resistencia a la fatiga, se subdividen a su vez en tres subpoblaciones, cuyas características distintivas se resumen en la Tabla 1. Las  $\gamma$ -MNs son de pequeño tamaño, inervan fibras musculares intrafusales, tienen velocidad de conducción axonal lenta y su función es detectar cambios en la longitud de la fibra muscular para realizar ajustes en el movimiento. Entre ambos tipos están las  $\beta$ -MNs, de tamaño y velocidad de conducción axonal intermedios y divididas en dos subpoblaciones: una con función estática, que inerva fibras intrafusales, y la otra con función dinámica, que inerva fibras extrafusales<sup>88, 89</sup>. En la unión neuromuscular o *placa motora*, la terminal axónica de la MN produce un potencial local que desencadena la liberación de *acetilcolina* al espacio sináptico y activa sus receptores en zonas



específicas del sarcolema. El calcio actúa como segundo mensajero y los cambios en su concentración intracelular inician y finalizan la actividad contráctil<sup>90</sup>.

Igual que las MNs, las fibras musculares muestran características fisiológicas y morfológicas que determinan su especialización y permiten su clasificación. De entre las distintas clasificaciones, hemos seleccionado la basada en el comportamiento histoquímico frente a tres enzimas tisulares: *miosina ATPasa*, cuyas isoformas se relacionan con la velocidad de contracción; *succinato-deshidrogenasa*, que muestra el potencial oxidativo; y  *$\alpha$ -glicerofosfato-deshidrogenasa*, que informa sobre su capacidad glucolítica. Así, distinguiremos tres tipos de fibras musculares: las fibras lentas oxidativas, las rápidas oxidativas y las rápidas glucolíticas<sup>91</sup>.

**Tabla 1:** Tipos y características de las  $\alpha$ -motoneuronas.

$\alpha$ -MOTONEURONAS	GRANDES	INTERMEDIAS	PEQUEÑAS
<b>Tamaño del soma</b>	>900 $\mu\text{m}^2$	700-900 $\mu\text{m}^2$	500-700 $\mu\text{m}^2$
<b>Velocidad de conducción</b>	80-120 m/s	80-100 m/s	60-80 m/s
<b>Unidad motora</b>	Rápida fatigable	Rápida resistente a la fatiga	Lenta
<b>Nº de fibras que inerva</b>	Alta	Media	Baja
<b>Orden de reclutamiento</b>	Tardío	Intermedio	Temprano
<b>Patrón de descarga</b>	Fásico	Tónico-fásico	Tónico
<b>Resistencia a la fatiga</b>	Baja	Intermedia	Alta

Las *fibras lentas oxidativas* (LO) son las de menor tamaño, su activación es lenta y generan poca fuerza, pero son muy resistentes a la fatiga. Las *rápidas oxidativas* (ROG) son algo más grandes y, aunque se activan a velocidades más altas que las anteriores, siguen mostrando resistencia a la fatiga. Las *fibras rápidas glucolíticas* (RG) son las de mayor tamaño y velocidad de activación, generan gran cantidad de fuerza, pero a cambio se fatigan precozmente. La cantidad y distribución de cada tipo en un músculo definen su capacidad para una tarea determinada. Así, en el humano, los músculos posturales del tronco<sup>92</sup> y los extensores de los miembros inferiores<sup>93</sup> tienen mayor porcentaje de fibras lentas, mientras que el masetero está constituido en su gran mayoría por rápidas<sup>94</sup>. El consumo metabólico es mayor en los músculos de contracción rápida que en los

lentos<sup>95</sup>. Un músculo rápido contiene más fibrillas y menos mitocondrias que uno lento, lo que también aumenta su eficacia para la generación de fuerza. Independientemente de la velocidad a la que se haya iniciado un movimiento, la velocidad de ejecución comienza a disminuir con el paso del tiempo porque una vez agotadas las reservas metabólicas de las fibras rápidas, pasan a ejecutarlo las fibras lentas. Cuando estas se agotan, el músculo sufre daño estructural si se intenta mantener el movimiento<sup>2</sup>. Aunque el perfil de fibras define la función muscular, el enclave anatómico también es de gran importancia. Mediante ecografía se ha comprobado que a medida que un músculo penniforme se acorta, su ángulo de pennación aumenta<sup>96</sup> pero su volumen en una contracción aislada no varía sustancialmente. Este efecto permite incrementar la fuerza mientras el músculo se está acortando y se reduce la velocidad de desplazamiento articular. Será el entorno anatómico -el tipo y la orientación de la articulación y la longitud de los segmentos óseos- el que determine la solución óptima en cada localización y para cada animal. El movimiento de los animales involucra siempre varios músculos, que en general se contraen y relajan cíclicamente, como sucede en la locomoción. Sería razonable esperar que la fuerza ejercida por los músculos integrantes de una cadena, cualquiera que sea su grado de acortamiento, siguiera las mismas reglas físicas que una fibra aislada. Sin embargo, ya hemos visto que un músculo aislado modifica su fuerza si previamente se encuentra estirado, *-activación por estiramiento-* o acortado *-desactivación por acortamiento-*. Los estiramientos y acortamientos musculares cíclicos durante la locomoción se realizan generalmente a una velocidad constante y energéticamente óptima para cada estilo locomotor, especie e individuo<sup>2</sup>.

La energía necesaria para la locomoción terrestre resulta de la suma de tres componentes: la *energía cinética*, la que exhibe cualquier cuerpo por el hecho de encontrarse en movimiento; la *energía potencial gravitacional*, la que posee un cuerpo por mantenerse elevado del suelo; y la *energía elástica*, la que almacenan algunas estructuras corporales gracias a que pueden ser estiradas y comprimidas sin romperse. Energía cinética y potencial gravitacional son consecuencia directa de la función de los músculos y todas las estructuras neurales que los activan y modulan. Durante la locomoción ambas son interconvertibles, de modo que aceleraciones y frenados del animal se convierten en ascensos y descensos al desplazarse. El componente elástico reside

fundamentalmente en los tendones. Gracias a sus propiedades, se genera en ellos una pequeña cantidad de trabajo neto cuando se estiran y se disipa energía en forma de calor cuanto se acortan. Su función es vital para armonizar las fuerzas que actúan en los segmentos corporales involucrados en los movimientos oscilatorios, pues ajustan la velocidad y frecuencia de contracción en función de su respuesta elástica, lo que reduce al mínimo el gasto energético<sup>97, 2</sup>.

Tendones y ligamentos son tejidos bifásicos, composites de fibras colágenas y matriz viscoelástica. El movimiento articular induce tensión en los ligamentos y la actividad muscular induce tensión en los tendones. Las fascias tienen la particularidad de envolver y separar grupos musculares, compartimentalizándolos y actuando como una cincha que aumenta su potencia en contracción máxima. Los tendones transmiten las tracciones del músculo al hueso, pudiendo extenderse hasta el 5 % de su longitud y soportar tracciones muy elevadas. A medida que el músculo se va acortando, el tendón va tensándose, se alarga y almacena energía elástica, que liberará súbitamente al final de la contracción mientras se acorta, funcionando a modo de muelle o resorte<sup>63</sup>.

El músculo posee además, estructuras sensoriales especializadas en retroalimentar el circuito motor, los *órganos tendinosos de Golgi* (OTG) y los *husos neuromusculares*, de modo que el movimiento final sea siempre preciso y económico. El huso está formado por varias fibras musculares, denominadas *intrafusales*, especializadas en detectar elongación muscular e inervadas por dos tipos de axones mielínicos: las *fibras I<sub>a</sub>* o *aferentes primarias*, las de mayor diámetro; y las *fibras del tipo II* o *aferentes secundarias*, de diámetro menor. Los OTG se localizan en la unión músculo-tendinosa y están formados por terminaciones nerviosas alojadas entre el colágeno del tendón, las *interneuronas (INs) I<sub>b</sub>*. La contracción del músculo estira el tendón y la red de colágeno las comprime, desencadenándose en ellas señales cuyo destino es el SNC. Mientras un músculo se estira, aumenta la frecuencia de los potenciales de acción en la fibra I<sub>a</sub>, pero si se contrae, disminuye la frecuencia de los potenciales I<sub>a</sub> pero puede aumentar la de los potenciales en la fibra I<sub>b</sub>. Toda fuerza generada por los músculos o externa al cuerpo, se aplica finalmente sobre estructuras mecánicas corporales y modifica su forma y/o posición en alguna medida. Los receptores sensoriales involucrados en el movimiento son en esencia transductores de fuerza que,

ante los cambios de posición, permiten al SNC contextualizarse y sacar partido de las propiedades físicas de los tejidos efectores, ayudando así a que la ejecución motriz sea fluida y económica.

## 2.2.2 Tipos de movimiento y control neural de la locomoción en mamíferos cuadrúpedos

La coordinación, velocidad y precisión con la que se llevan a cabo los movimientos en los mamíferos es posible gracias a un exquisito control neural organizado en tres niveles, todos ellos con capacidad de recibir información sensitiva y elaborar respuestas motoras: la médula espinal, el tronco del encéfalo y la corteza cerebral. Existen además dos núcleos subcorticales de retroalimentación: los *ganglios basales* y el *cerebelo*. La complejidad va siendo progresivamente mayor al ir ascendiendo de nivel, de modo que los actos motores dependientes del nivel superior, la corteza cerebral, utilizan los sustratos troncoencefálico y medular, pero tendrán una ejecución y un significado comportamental propios. Según el sistema neural que los desencadene, los movimientos serán reflejos, voluntarios o automáticos<sup>98</sup>. En los *movimientos reflejos*, una señal sensorial dispara la actividad de las MNs y éstas las de las fibras musculares de las unidades motoras correspondientes. Los circuitos reflejos generan movimientos muy estereotipados, sobre los que se superponen numerosos sistemas de control capaces de aumentar su repertorio comportamental y ajustarlos a ambientes complejos. Los *movimientos voluntarios* comparten con los reflejos algunas características, puesto que emplean la misma vía final común<sup>80, 81</sup>. Utilizan, modulan y reestructuran los circuitos reflejos, incluidas las señales sensoriales, pero la orden motora parte de la corteza cerebral y los ganglios basales y se desarrolla y ejecuta en otro contexto. Entre ambos están los *movimientos rítmicos o automáticos*, secuencias motoras cíclicas muy estereotipadas que se organizan y mantienen desde redes neurales del tronco del encéfalo y la médula espinal, pero se inician por órdenes encefálicas o por determinadas señales sensoriales. El paradigma de estudio del movimiento automático en la rata es la locomoción.

En general, existen tres tipos de reflejos dependientes de la médula espinal: de estiramiento, de Golgi y de flexión o retirada. Los *reflejos de extensión o estiramiento* son

propioceptivos y principalmente monosinápticos y tienen como función esencial mantener una correcta longitud muscular. El estiramiento de los husos neuromusculares estimula fibras tipo I<sub>a</sub> y/o II, que activan las  $\alpha$ -MNs, y el músculo cuyos husos han iniciado el circuito, se contrae. La función del *reflejo del OTG* es regular la fuerza muscular y evitar daño musculotendinoso por sobretensión, gracias a un circuito disináptico en el que fibras tipo I<sub>b</sub> responden a la tensión del tendón y las INs inhibitoras del asta intermedia inhiben a las  $\alpha$ -MNs, consiguiéndose relajación muscular. Por último, los *reflejos de flexión o retirada* son polisinápticos y exteroceptivos, y su función es protectora. El estímulo desencadenante, habitualmente cutáneo, se transmite por fibras tipo III ó IV a INs excitatorias e inhibitoras que, a través de  $\alpha$ -MNs, desencadenan una secuencia motora coordinada cuya ejecución incluye la flexión de unos músculos y la extensión de otros. Cuanto mayor sea la intensidad del estímulo, mayor número de metámeras se verán implicadas en la respuesta. Los reflejos de estiramiento y de Golgi juegan un papel muy importante en la generación de fuerza muscular para la ejecución de movimientos automáticos. En el caso del reflejo de Golgi, es particularmente importante el hecho de que el se transforma de inhibitorio a excitatorio durante la locomoción (sección 2.2.3).

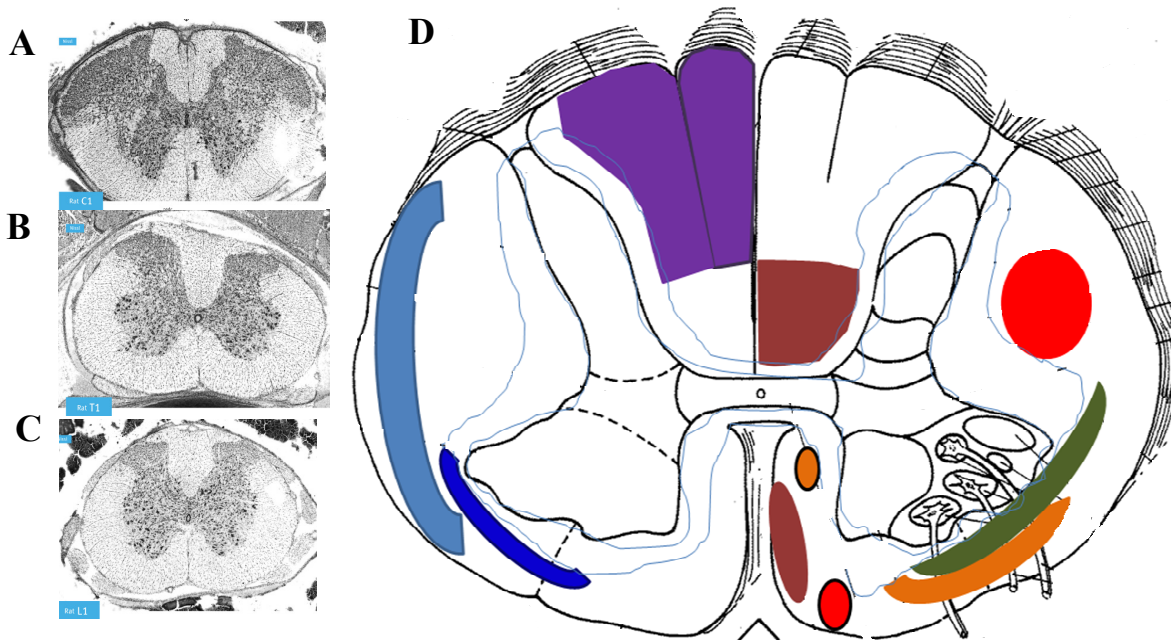
El primer nivel de control lo constituye la *médula espinal*, la porción menos modificada y más caudal del tubo neural embrionario. Su patrón citoarquitectónico, descrito en el gato pero similar para todos los mamíferos, organiza la *sustancia gris* de cada segmento en 10 láminas, numeradas correlativamente de dorsal a ventral<sup>99, 100</sup> (Fig. 4A, B y C). Los somas de las MNs se organizan en columnas, que forman la lámina IX y responden a un patrón general según el cual las mediales inervan la musculatura axial y las laterales de los engrosamientos cervical y lumbar inervan las extremidades. Además, los núcleos de los músculos flexores de las extremidades se localizan dorsales y los de los extensores, ventrales<sup>101</sup>. La principal fuente de entradas sinápticas a las MNs son las *interneuronas* (INs) *espinales*<sup>102</sup>, cuya función es permitir la coordinación e integración, bien dentro del mismo segmento –*INs intrasegmentarias*– o entre metámeras más o menos distantes –*INs propioespinales*–. Las INs se reparten en regiones dentro de la sustancia gris: las de la región dorsal participan en el procesamiento sensitivo y en los reflejos espinales polisinápticos de estiramiento<sup>103</sup>; las de la región intermedia y anterior permiten la integración

sensoriomotriz, ajustando la salida de las MNs y formando parte de redes neuronales generadoras de patrones rítmicos o bien actuando como relevos premotores de los sistemas supraespinales. En función de la longitud de su axón se clasifican en *cortas*, si conectan segmentos adyacentes; *medias*, eminentemente ipsilaterales; y *largas*, las que conectan la médula cervical y lumbar<sup>104</sup>.

La sustancia gris medular se encuentra rodeada de tractos, que constituyen la *sustancia blanca*. Los *tractos ascendentes* conducen la información desde los receptores sensoriales, mientras que los *tractos descendentes* transmiten comandos motores y señales que modulan la información sensorial enviada por la propia médula espinal<sup>105</sup>. Para facilitar su estudio, la sustancia blanca se divide en tres funículos: dorsal, lateral y ventral o anterior (Fig. 4D). La información sensitiva de vibración, tacto profundo, discriminación entre dos puntos y la propiocepción consciente viajan ipsilateralmente desde los receptores cutáneos y músculotendinosos hasta diversos núcleos encefálicos por el *cordón posterior* del funículo dorsal. Este tracto se divide a su vez en dos: el *fascículo grácilis*, medial y el *cuneatus*, lateral. El primero contiene las fibras procedentes de los miembros posteriores y la mitad caudal del tronco y el segundo, los de la mitad rostral de éste y los miembros anteriores. Por el funículo ventral discurre la principal aferencia medular al diencéfalo, el *tracto espinotalámico*, con información contralateral dolorosa, térmica, de presión y táctil no discriminativa. Las fibras que informan sobre dolor y temperatura se decusan un segmento arriba y abajo de su entrada en la médula espinal y constituyen el *fascículo espinotalámico lateral*; las de tacto no discriminativo y presión, que forman el *fascículo espinotalámico ventral*, no lo hacen hasta varios segmentos por encima<sup>106</sup>. En la rata, las neuronas espinotalámicas están en las láminas I a IV y envían colaterales a la formación reticular troncoencefálica, la sustancia gris periacueductal y el área parabraquial<sup>105</sup>.

Las fibras aferentes que ascienden por la médula hasta el cerebelo se agrupan en dos tractos extensos, los *tractos espinocerebelosos*. Las aferencias del *tracto espinocerebeloso dorsal* proceden de los husos neuromusculares y los OTG, entran en la médula espinal por el asta dorsal y alcanzan el *núcleo dorsal de Clark*, situado en la rata en la parte más medial de la lámina VII, entre las metámeras T1 y L3<sup>107</sup>. El núcleo de Clark está constituido por grandes neuronas multipolares, cuyos axones ascienden ipsilateralmente hasta el vermis cerebeloso. En las láminas V, VI y VII hay

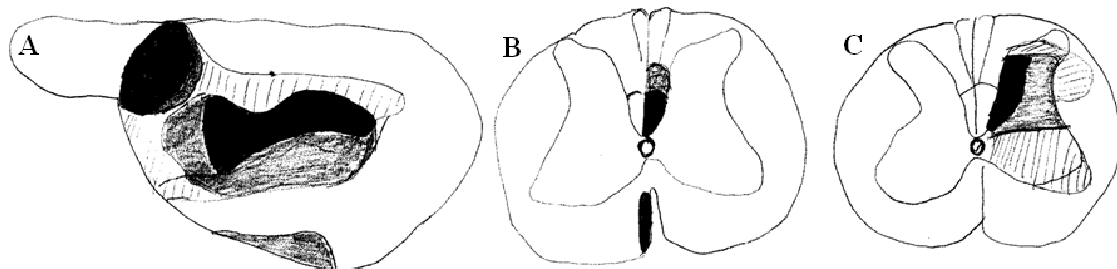
otras neuronas cuyos somas no forman un núcleo concreto y que se decusan en los segmentos adyacentes, antes de ascender hacia el cerebelo. Éstas forman el *tracto espinocerebeloso ventral*. En el gato, se ha comprobado que tanto las fibras ventrales como las dorsales transmiten impulsos relacionados con la coordinación muscular y postural de los miembros posteriores<sup>108</sup>.



**Fig. 4: Tractos ascendentes y descendentes de la médula espinal de la rata.** A, B y C) Fotografías de secciones transversales de médula espinal en C1, T1 y L1 respectivamente. Obsérvese el cambio de la distribución citoarquitectónica. D) Sección transversal de la médula cervical. En la hemimédula derecha se muestran los principales tractos ascendentes: en violeta los cordones posteriores, con el fascículo grácil, medial y el cuneatus, lateral; en azul claro los tractos espinocerebelosos; en azul oscuro, el tracto espinotalámico. En la hemimédula izquierda se muestran los tractos descendentes: el tracto corticoespinal, en granate; el tracto rubroespinal, en rojo; el tracto tectoespinal y negro, en rojo rodeado de negro; el tracto vestibuloespinal, en naranja; el fascículo longitudinal medial en naranja y negro; y el tracto reticuloespinal, en verde. Alrededor de la sustancia gris se encuentran las vías propioespinales, delimitadas por una línea fina azul. (Modificado de PAXINOS G. *The rat nervous system*. Ed. Elsevier, 2004).

El último componente del circuito espinocerebeloso lo constituyen las *vías espinoolivares*, que se originan en el núcleo propio de las láminas II, IV y V y en el núcleo cervical central, transmiten información propioceptiva procedente de los receptores I<sub>b</sub> de los miembros anteriores y llegan al cerebelo, previa sinapsis en la oliva inferior<sup>109</sup>. Un número considerable de fibras sensoriales originadas en neuronas del asta posterior ascienden por el funículo lateral tanto ipsi como contralateral, hasta alcanzar amplias zonas de la formación reticular troncoencefálica. Constituyen el *haz espinorreticular*, sistema filogenéticamente antiguo involucrado en la modulación sensitivomotora y de la actividad electrocortical en función del nivel de conciencia<sup>110</sup>.

Los somas de la mayoría de las neuronas telencefálicas que proyectan a la médula espinal se encuentran en la corteza motora primaria y sus axones constituyen el *tracto corticoespinal* (TCE). Sólo existe en mamíferos y ha aumentado cuantitativamente a lo largo del desarrollo filogenético, llegando en el humano a contener aproximadamente un millón de fibras. Este tracto representa una “vía final común de las áreas encefálicas implicadas en el control motor”<sup>111,112,113,114</sup> [Fig. 5A]. Tras discurrir por la cápsula interna y decusarse en las pirámides bulbares, en la rata se sitúa mayoritariamente en la porción más ventral del funículo dorsal<sup>115</sup> con algunas fibras no cruzadas descendiendo por el funículo ventral (Fig. 5B). El TCE de la rata inerva mayoritariamente las láminas dorsales y medias<sup>116, 105</sup>, mientras que en humanos se ha desarrollado además un gran componente corticomotoneuronal directo<sup>117, 110, 118</sup>. Tanto en humanos como en ratas, se encuentran segregadas las neuronas corticoespinales que inervan la médula cervical y controlan el miembro anterior de aquellas que proyectan a la médula lumbar para controlar el miembro posterior<sup>112</sup>. Aunque el número de fibras corticoespinales directas a las MNs espinales ha ido aumentando a lo largo de la filogenia y su papel en la ejecución de los movimientos finos de la mano se considera crucial en el humano<sup>119</sup>, su existencia y papel en los roedores aún no está del todo aclarados, pues aunque existen evidencias anatómicas de fibras corticoespinales dorsales cruzadas que terminan en las láminas dorsales y en la sustancia gris central<sup>120, 121</sup>, no hay certeza electrofisiológica de transmisión monosináptica en dicho tracto (Fig. 5C). Sí existen, sin embargo, datos de transmisión disináptica mediada por neuronas reticuloespinales, e incluso polisináptica, mediada por INs segmentarias<sup>122</sup>.



**Fig. 5: Tracto corticoespinal de la rata.** A) Visión sagital esquemática de la localización de neuronas que dan origen al tracto corticoespinal en la corteza cerebral, que incluyen el área motora primaria, parte de las áreas somatosensoriales primaria y secundaria y el área motora suplementaria. B) Sección transversal de la médula espinal que muestra las zonas por donde discurren las fibras cruzadas en el funículo dorsal contralateral y las directas en el funículo ventral ipsilateral. C) Sección transversal de la médula espinal que muestra las regiones en las que terminan los axones corticoespinales. Las zonas de color negro exhiben una alta densidad de fibras; las grises, densidad intermedia; y las rayadas, sólo algunas pocas fibras. Modificado de PAXINOS G. *The rat nervous system*. Ed. Elsevier, 2004.



El segundo nivel de integración y control motor es el tronco cerebral, que alberga múltiples núcleos motores. En las porciones parvocelular y magnocelular de núcleo rojo del mesencéfalo se origina el *tracto rubroespinal*, que desciende en la médula por el funículo dorsal contralateralmente a su origen mesencefálico y termina estableciendo sinapsis en las INs de las láminas V, VI y VII<sup>123</sup>. Núcleo y tracto muestran organización somatotópica, reminiscencia de la secuencia de descenso desde el mesencéfalo a la médula espinal durante el desarrollo<sup>124</sup>. Así, la porción ventrolateral proyecta al engrosamiento lumbar y la dorsomedial al engrosamiento cervical<sup>125, 126, 127</sup>. Las lesiones de este tracto se han relacionado en la rata con la pérdida de los movimientos precisos de la pata anterior<sup>128, 129, 21</sup> y con incapacidad para la coordinación entre miembros anteriores y posteriores, pero no entre los posteriores durante la locomoción<sup>13</sup>.

El *tracto tectoespinal* se origina en el colículo superior mesencefálico, proyecta a las láminas V, VII y VIII de la médula cervical contralateral<sup>105, 130, 131</sup> y se le relaciona con el control de los movimientos de la cabeza.

Los principales núcleos del puente que proyectan a la médula espinal incluyen vías serotoninérgicas, como la *formación reticular pontina*, y noradrenérgicas, como el *locus coeruleus* y el *núcleo parabraquial*. Sus axones descendentes se han relacionado con el control de diversas funciones autonómicas, la modulación de la percepción dolorosa y eventualmente con determinadas modificaciones en el patrón locomotor.

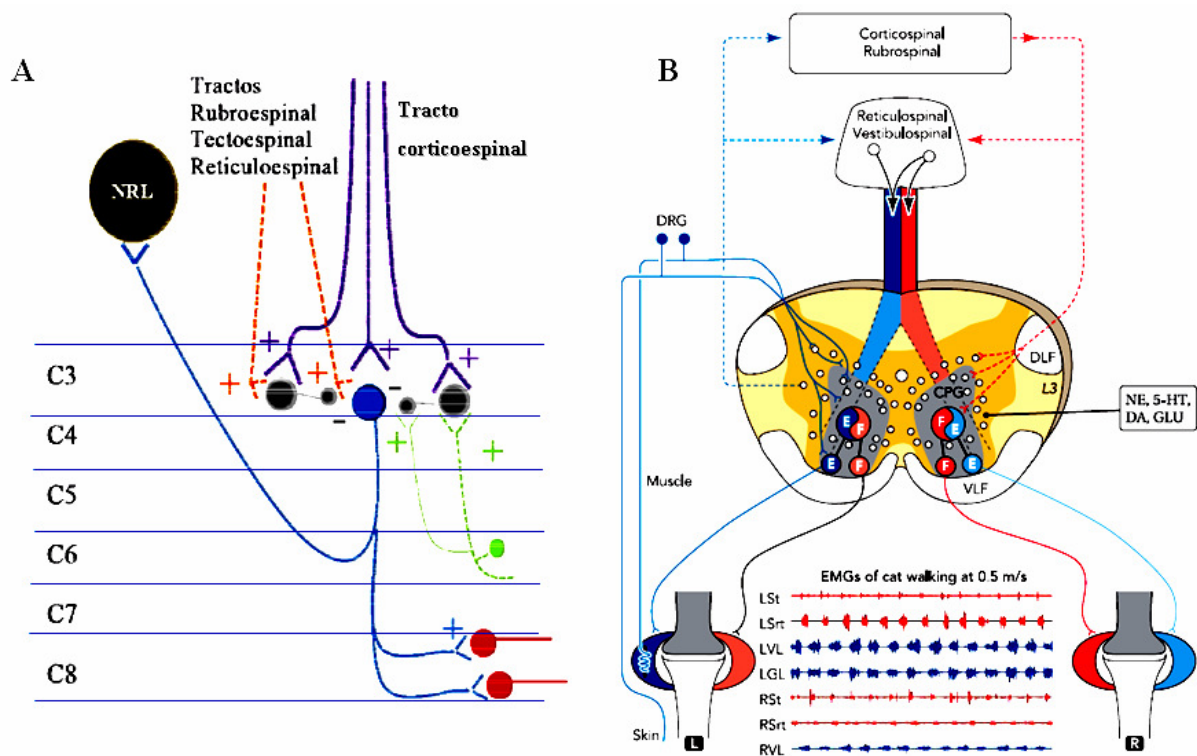
En la transición entre mesencéfalo y puente se encuentra la *región locomotora mesencefálica* (RLM), capaz de integrar señales de la corteza motora y los ganglios basales<sup>132</sup>. En el gato, su estimulación induce la marcha, que se convertirá en trote o galope a medida que se va aumentando la frecuencia de estimulación<sup>133</sup>. La RLM se compone del *núcleo pedúnculo-pontino*, involucrado preferentemente en el inicio y la terminación de la locomoción, y del *núcleo cuneiforme*, relacionado con el mantenimiento de la actividad muscular cíclica<sup>134</sup>. Actúa en la médula espinal a través de proyecciones en el bulbo raquídeo al *núcleo reticular gigantocelular* (NRGC)<sup>135, 136, 137</sup>, cuyos axones descienden bilateralmente por el bulbo formando los *tractos reticuloespinales*. Además de actuar sobre la musculatura estriada de las extremidades y el tronco involucrada en el inicio de la locomoción<sup>138</sup>, modulan la presión arterial y la frecuencia cardíaca a

través de las neuronas preganglionares simpáticas del asta intermediolateral cervical y torácica, la respiración a través de los núcleos frénicos en las metámeras C3, C4 y C5, y se les ha relacionado también con la conducta motora sexual<sup>139, 140</sup>. Los *núcleos del rafe*, forman parte también de la formación reticular bulbar, proyectan a las astas intermediolaterales cervicotorácicas y participan en tareas de integración somatosensorial y autonómica<sup>141</sup>. El *tracto vestibuloespinal* se origina en el *complejo vestibular bulbar*, desciende por el funículo ventrolateral y proyecta a todos los segmentos medulares<sup>142, 143, 144</sup>. El papel en la locomoción de los tractos reticuloespinal y vestibuloespinal se ha abordado utilizando modelos de lesión medular ventrolateral en ratas y gatos<sup>145</sup>, que han permitido comprobar que si las vías reticuloespinales juegan un papel importante en la iniciación de la locomoción, el soporte de peso y la coordinación entre las extremidades, las vestibuloespinales son necesarias para el control postural dinámico<sup>13</sup>.

Por último, la propia médula espinal posee una red neuronal encargada de conectar las metámeras entre sí, cuyos axones forman los *tractos propioespinales*, que en total dan cuenta de aproximadamente el 33 % de la sustancia blanca medular en la rata<sup>146, 147</sup>. Existe una estrecha relación entre la zona de sustancia blanca por la que discurren las vías propioespinales y la de sustancia gris a la que proyectan. Así, las fibras dorsolaterales proyectan a la porción dorsolateral de la sustancia gris intermedia y a las MNs de los músculos distales de las extremidades, mientras que las fibras propioespinales ventromediales proyectan a la porción medial de la lámina VII y las MNs de los músculos proximales de los miembros. En el funículo ventral se concentran la mayoría de los axones propioespinales largos, que proyectan a la porción media de las láminas VII y VIII y a los músculos del tronco. Los engrosamientos cervical y lumbar se comunican entre sí tanto en sentido ascendente como descendente por medio de axones propioespinales largos, pero mientras las proyecciones cervicolumbares descendentes suelen ser bilaterales, las ascendentes lumbocervicales suelen ser sólo contralaterales.

Dos circuitos propioespinales juegan un decisivo papel en la motricidad del miembro anterior y la locomoción: *el sistema premotoneuronal propioespinal cervical (SPPC)* y *el generador central de pautas lumbar*. Los somas del primero (Fig. 6A) se localizan principalmente

en las metámeras C3 y C4 y sus axones proyectan a las MNs de C7 y C8 y al núcleo reticular lateral (NRL) del tronco del encéfalo.



**Fig. 6: Circuitos propioespinales relacionados con miembro anterior y la locomoción en la rata. A)** Sistema premotoneuronal propioespinal cervical. A la izquierda, los segmentos medulares. Las INs se representan en azul. NRL: núcleo reticular lateral, negro; MNs: rojo. Aferencias sensoriales: verde; y las INs intrasegmentarias: gris. Las sinapsis excitatorias se señalizan con el signo + y las inhibitorias con - (*modificado de LÚCAS-OSMA, 2011*). **B)** Generador central de pautas (CPG): circuito de INs situado dentro de una sección transversal de la médula lumbar en el centro de la imagen. Vasto lateral (VL) y gastrocnemio lateral (GL), en rojo; semitendinoso (St) y sartorio (Srt), en azul; lado derecho=R, izquierdo=L; DRG: ganglio de la raíz dorsal; DLF: funículo dorsolateral; VLF: funículo ventrolateral; NE: noradrenalina; 5-HT: serotonina; DA: dopamina. Para una explicación detallada de ambos circuitos, ver el texto. (*Modificado de ROSSIGNOL et al., 2009*).

El SPPC ha podido ser identificado electrofisiológicamente en gatos<sup>148, 149</sup>, primates y humanos<sup>150</sup>, comprobándose que recibe conexiones excitatorias del TCE y los tractos rubroespinal, tectoespinal y reticuloespinal, entradas sensoriales procedentes de músculos, articulaciones y piel<sup>151</sup> y conexiones inhibitorias procedentes de las INs del segmento. Su ubicación como relevo entre los tractos cortico y subcorticales y los núcleos motores espinales permite actualizar la información supraespinal antes de transmitírsela a las MNs, cumpliendo así una función moduladora, que además envía copia de las señales de las MNs al cerebelo a través de colaterales al NRL<sup>152</sup>.

El *generador central de pautas* (CPG) –del inglés Central Pattern Generator-<sup>153, 154</sup> (Fig. 6B) organiza las pautas de flexión y extensión de las extremidades durante la locomoción como parte de una cadena cinemática automática, de modo que sus unidades motoras son activadas rítmicamente. El CPG espinal se sitúa en el engrosamiento lumbar, se encuentra bajo el mando de las regiones locomotoras subtalámica, mesencefálica y cerebelar<sup>155</sup> y recibe señales de los sistemas sensoriales, de otros núcleos del tronco del encéfalo, de la corteza cerebral y de los ganglios basales.

### 2.2.3. Papel de los receptores de carga en el control neural de la locomoción

El control de la postura y la locomoción en los animales terrestres va ligado al control de la carga gravitacional y al desarrollo de receptores capaces de sensarla. Además de los OTG, están involucrados en la detección de la carga los receptores sensoriales táctiles y de presión de las plantas de las patas, los husos neuromusculares y los corpúsculos de Ruffini y Paccini de las articulaciones<sup>156</sup>. Durante la locomoción, las señales procedentes de los receptores de carga interactúan con aquellas que provienen del CPG, determinando el patrón de coordinación entre las extremidades más apropiado. En el gato, las aferencias  $I_b$  de los extensores inhiben la contracción de los flexores durante la locomoción<sup>157, 158</sup> y facilitan la producción de fuerza antigravitatoria cambiando su efecto de inhibición autóloga por excitación, mecanismo que involucra también a las aferencias  $I_a$  de los husos neuromusculares y a las INs de una o varias metámeras. Los receptores de carga de los OTG de los músculos extensores detectan cambios en la posición del centro de masas con respecto de los presorreceptores de las patas y ayudan así a regular la duración de la fase de apoyo de la extremidad<sup>156, 158, 159</sup>.

La carga gravitacional que impone el peso corporal a una extremidad es crucial durante su apoyo, pero menor cuando está en fase aérea. Por eso, detectar la carga resulta imprescindible para regular la duración de los apoyos y cambiar el estilo locomotor<sup>156</sup>. Cuanto mayor es la carga, mayor es la duración y la fuerza extensora en la fase de apoyo, lo que puede lograrse por acción directa sobre las MNs o mediante estímulos excitatorios sobre el CPG. Y aunque por ambas vías se

consigue ganancia extensora, sólo a través del CPG se puede modificar la transición de la fase de apoyo a la aérea, a través tanto de las aferencias propioceptivas I<sub>a</sub> y I<sub>b</sub> como de las exteroceptivas cutáneas III y IV, de modo que si se detecta aumento de la carga por cualquiera de las dos vías aferentes, se retrasa el inicio de la fase aérea<sup>160</sup>. Recíprocamente, se anticipará la fase aérea de una extremidad si se elimina la carga sobre la misma<sup>161</sup>, mecanismo que está en la base del entrenamiento de la marcha espinal sobre un tapiz rodante con soporte parcial o total del peso corporal en pacientes con lesión medular<sup>162, 163, 164, 165, 166, 167</sup>. Es importante señalar que la aplicación de un estímulo sensitivo cutáneo no doloroso apenas alarga la fase aérea ni tiene efectos sobre la duración del ciclo si no va acompañado de otros estímulos sensoriales simultáneos<sup>168, 157</sup>. Este efecto extensor excitatorio dependiente de las fibras I<sub>b</sub> se ha visto también en la marcha humana normal y patológica, por ejemplo en enfermos de Parkinson, que muestran una sensibilidad reducida de los receptores de carga y como consecuencia, deterioro de la fuerza extensora y alteración la duración de los apoyos de las extremidades<sup>168, 169</sup>.

Tras una lesión medular se pierde la capacidad fisiológica de cambiar la inhibición autóloga a excitación durante la locomoción, dificultándose la correcta generación de fuerza extensora y alterándose la duración y las transiciones de fase durante la locomoción<sup>170, 16</sup>. Otras aferencias importantes para el control de la locomoción son las procedentes de la cadera<sup>171</sup>. La coordinación entre los miembros anteriores y los posteriores durante la locomoción cuadrúpeda reside mayoritariamente en circuitos intraespinales. Los receptores de carga de las extremidades contribuyen a hacerla consistente y flexible, siendo las dos extremidades del mismo par diagonal las que mejor coordinadas están entre sí. El sustrato neural de dicha coordinación lo constituyen las vías propioespinales largas<sup>154, 156</sup>.

Los mamíferos gastan relativamente poca energía durante la bipedestación estática, porque sus cuerpos están biomecánicamente optimizados y algunos desequilibrios posturales se compensan pasivamente gracias a la disposición ósea, ligamentosa y musculotendinosa. Cuando los músculos se están contrayendo, su dureza – o resistencia al estiramiento- aumenta y también lo hace su capacidad para resistir estrés. Durante la locomoción, el aumento de la dureza muscular previo al soporte de carga -acción anticipatoria o *feedforward*- evita el desequilibrio corporal, siendo éste un

mecanismo al menos tan importante como los ajustes reflejos -retroacción o *feedback*-<sup>172</sup>. En la contracción muscular anticipatoria intervienen las entradas rubro y reticuloespinales, que convergen en INs espinales con las fibras sensoriales I<sub>a</sub>, I<sub>b</sub> y II.

#### 2.2.4. Morfología y fisiología del tríceps braquial y biomecánica del miembro anterior durante la locomoción cuadrúpeda y bípeda.

El TB es un músculo multipenniforme formado en la rata habitualmente por tres fascículos: uno biarticular y activo sobre hombro y codo, el *FL*; los otros dos monoarticulares y sólo activos sobre el codo, el *fascículo medial (FM)* y el *F lat* (Fig. 7A). Excepto en perros, vacas y cerdos, es poco frecuente que aparezca un cuarto fascículo. Cuando aparece, se interpreta como variante de la normalidad, aunque se ha asociado con mayor riesgo de compresión del paquete vasculonervioso<sup>173</sup>. Todos los fascículos comparten inserción en el olécranon, pero tanto el origen como el tamaño y la composición de sus fibras musculares es diferente. La mayoría de fibras musculares de los FL y F lat son grandes y de tipo II, mientras que el FM tiene más fibras pequeñas de tipo I<sup>174, 175</sup>.

Como ya hemos visto, durante la locomoción cuadrúpeda el miembro anterior soporta tanta carga como el posterior y contribuye al avance del cuerpo<sup>176, 177, 178</sup>, resultando esencial la fuerza extensora del TB para reposicionar correctamente la pata al final de la fase aérea (E1) y evitar además el colapso del codo cuando recibe el cuerpo acelerado durante el apoyo (E2)<sup>177, 179</sup>. En este sentido, existe especialización funcional entre los fascículos del TBa durante el salto, propiciada por la naturaleza biarticular del FL y monoarticular del F lat: el FL produciría fuerza y potencia extensora en hombro y codo para elevar el centro de masas, mientras que el F lat evitaría el colapso en flexión del codo y absorbería energía potencial en el aterrizaje sobre los miembros anteriores<sup>46</sup>. El FM sin embargo, se activa durante la cuadrupedia estática pero no con los movimientos rápidos del miembro anterior, en los que sí actúa el F lat<sup>45</sup>.

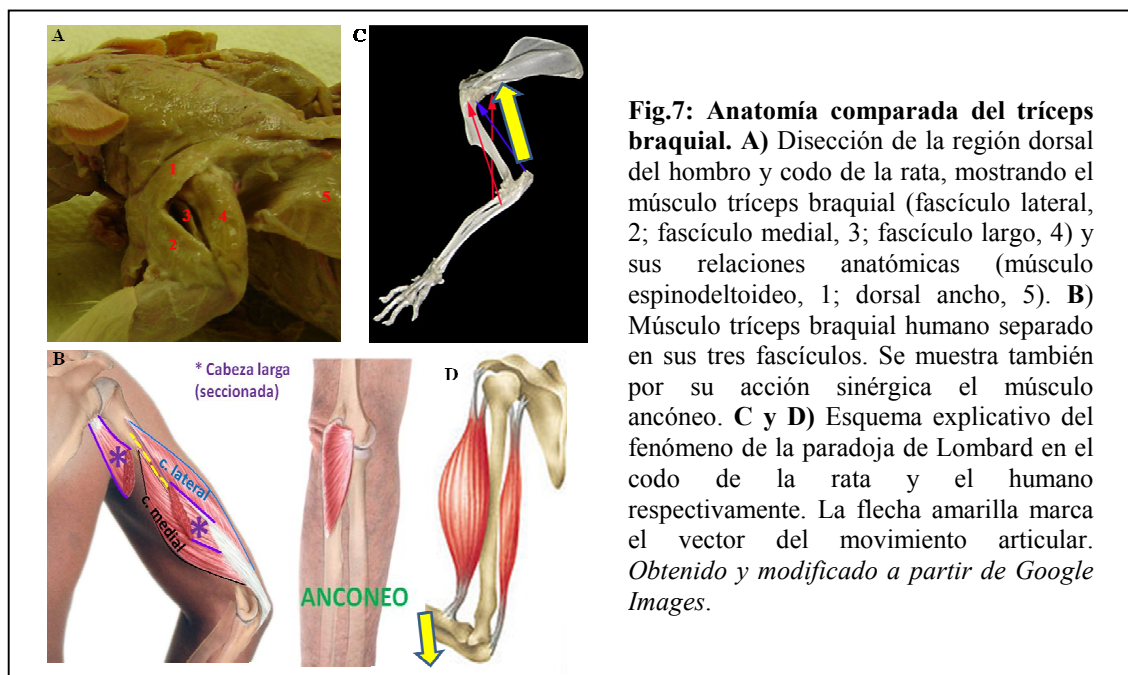
El TB humano es un potente extensor del codo, además de agonista pronador del antebrazo. Considerando cada fascículo por separado, el FM tiene función tensora de la cápsula articular del codo, pues algunas de sus fibras se insertan en continuidad con el *músculo ancóneo*, su principal

agonista (Fig. 7B). El FL sufre activación por alargamiento cuando se contrae conjuntamente con el bíceps braquial, encontrando así su brazo de palanca óptimo para producir la fuerza extensora máxima. Este fenómeno de contracción combinada de dos músculos biarticulares antagonistas, que asocian sus acciones para trabajar ambos en su rango óptimo de fuerza se conoce como *paradoja de Lombard*. En situación de compresión estática de codo, como por ejemplo en el soporte parcial del peso corporal con los brazos de la marcha con muletas, el bíceps braquial evita el acortamiento progresivo del tríceps y funciona como agonista extensor y no como flexor<sup>180, 62</sup> [Fig. 7D]. El mismo fenómeno se ha descrito también para la musculatura del codo en varias especies de cuadrúpedos durante la locomoción<sup>181</sup> [Fig. 7C].

La columna de motoneuronas del TB de la rata se extiende desde la mitad de C6 hasta regiones caudales de C8, apareciendo más densamente poblada entre los segmentos C7 y mitad rostral de C8<sup>182, 183</sup>. El núcleo motor del TB tiene en la rata aproximadamente 420 MNs, de las cuales, al subnúcleo del FL le corresponden aproximadamente 290 MNs, al del FM, alrededor de 100 MNs y al del F lat, sólo algo más de 30 MNs. Los tres subnúcleos se hallan entremezclados en la mitad rostral de la columna, mientras que la mitad caudal alberga sobre todo MNs del FL. El FM está formado principalmente por unidades motoras pequeñas -69 fibras/MN- y el F lat posee las más grandes -179 fibras/MN-, siendo el FL el que muestra una mezcla más balanceada de ambas -99 fibras/MN en promedio-<sup>175</sup>.

Puesto que los tres fascículos tienen inervación completamente independiente y especialización anatomofisiológica, bien podrían considerarse como músculos diferentes. Las tareas que requieran mucha fuerza activarán conjuntamente a los tres fascículos siguiendo el principio del tamaño. Recordemos que el FL es con diferencia el más grande y aunque en proporción, el FM tiene más fibras tipo I, en número absoluto es el FL el que aporta mayor número de fibras aeróbicas. Por eso, cuando hay que aplicar una fuerza extensora mantenida grande, o la tarea requiere control sinérgico de hombro y codo, es el FL el que se recluta preferentemente. El F lat está involucrado en los ajustes fásicos de alta intensidad y el FM en la realización de movimientos muy precisos pero de poca fuerza y en el mantenimiento postural estático<sup>45</sup>. La organización de los núcleos motores en la columna cervical se corresponde con la distribución de

los músculos de la extremidad anterior en la rata<sup>182</sup> y del brazo en el humano<sup>184</sup> y podría jugar un papel en la producción de las pautas de movimiento. Así, la interposición de los subnúcleos en la mitad rostral de la columna del TB podría concentrar las proyecciones supraespinales descendentes responsables del reclutamiento conjunto de los tres fascículos, mientras que mitad caudal del núcleo motor, casi exclusivamente compuesta por MNs del FL, podría reflejar la necesidad de especificidad sináptica sensorial, supraespinal o propioespinal en los comandos descendentes, encaminada a la activación selectiva de este subnúcleo<sup>175</sup>, como se ha descrito ya para otros subnúcleos en el miembro posterior del gato<sup>185</sup> y para los músculos de la mano en humanos<sup>186</sup>.



Si para el TB de la rata la locomoción es una tarea de fuerza, para el TB humano lo son diversos movimientos voluntarios y reflejos, como el alcance<sup>184</sup> o el soporte de peso durante el gateo<sup>187</sup>. Y del mismo modo que el TB de la cabra puede generar fuerza antigravitatoria mayor del doble de su peso corporal al caer sobre las patas delanteras después de un salto<sup>46</sup>, el TB humano desarrolla fuerza extensora de intensidades parecidas al evitar caídas hacia adelante<sup>159</sup>. La fuerza extensora del codo es aún más crítica para la realización de las actividades de la vida diaria, la propulsión de la silla de ruedas<sup>57</sup> o la marcha con bastones en pacientes con lesión medular<sup>113, 16</sup>.



### 2.3. Particularidades de la lesión medular cervical

Aproximadamente el 55 % de las lesiones medulares traumáticas humanas afectan a los segmentos cervicales y de ellas, el 70 % de los casos son incompletas<sup>188</sup>. A pesar de todo ello, hay relativamente pocos trabajos que aborden la recuperación funcional en modelos de lesión cervical. Tras una LME cervical, la muerte de MNs e INs segmentarias contribuye a los déficit crónicos de las extremidades superiores humanas<sup>189, 190</sup> o a los de los miembros anteriores en ratas<sup>183</sup>. Sin embargo, es la interrupción de la información sináptica supraespinal a todos los segmentos por debajo de la misma lo que más relevancia clínica tiene, esperándose tanto mayor desinervación en las neuronas cuanto más próximas estén al lugar de lesión. Cuanto más alejadas estén, mayor número de conexiones propioespinales conservarán, lo que explica porqué es más fácil inducir sinergias de flexo-extensión en los miembros inferiores de los pacientes con lesión cervical que toracolumbar<sup>163</sup>, pero también implica que se producirán pérdidas preferencialmente en las neuronas involucradas en el control de los brazos. Los segmentos más frecuentemente dañados son, en orden decreciente, C5, C4 y C6<sup>191</sup>. En todos estos casos se compromete el autocuidado, la independencia en las actividades de la vida diaria básicas e instrumentales y el uso del miembro superior como fuente de soporte accesorio en postura erecta. No es de extrañar que sea la pérdida de la función del brazo, por delante de la incontinencia esfinteriana, la locomoción o la función sexual, lo que más compromete la calidad de vida de los pacientes tetrapléjicos<sup>189</sup>.

En la marcha humana las cuatro extremidades se mueven coordinadamente y los miembros superiores contribuyen al balance pero no soportan peso, por lo que su alteración no causa trastornos locomotrices evidentes. Por el contrario, las lesiones medulares cervicales producen importantes trastornos de la locomoción en los roedores<sup>22, 183, 24</sup>. En contraposición, en las lesiones torácicas un cuadrúpedo compensa en parte las deficiencias de las extremidades posteriores mediante el sobreuso de las anteriores<sup>10, 192</sup>, mientras que un humano sólo puede hacerlo si usa ortesis para apoyarse en los brazos<sup>16</sup>.

### 2.3.1. Localización de la lesión cervical y deficiencias resultantes.

El tipo y grado de pérdida funcional en el brazo tras una lesión cervical humana dependen del nivel medular en que se produzca y de su extensión en el sentido transversal y longitudinal de la médula espinal. Igual que en el miembro inferior, en el superior existe una correlación anatomofuncional muy consistente, de modo que cada segmento medular controla músculos específicos. Esta organización topográfica tiene consecuencias importantes: ha posibilitado la elaboración de una escala de exploración clínica -la escala ASIA- útil, reproducible y fiable para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de los pacientes con LME<sup>193, 194</sup>, y permite predecir el grado de dependencia que presentan las personas según el nivel de la lesión (Tabla 2).

La estructura del miembro anterior y la topografía de las columnas de MNs de la rata son bastante similares a las del hombre<sup>182, 195</sup>, lo que apoya la existencia de patrones de organización neural común a lo largo de la filogenia en mamíferos. La Fig. 8 muestra la localización de los principales músculos del miembro anterior de la rata y sus correspondientes núcleos motores en el engrosamiento cervical. En general, en la rata las columnas de MNs de los músculos antagonistas comparten ubicación en al menos un segmento medular, pero esto no sucede en el caso del TB y su antagonista, el bíceps braquial: la columna del TB se localiza caudalmente, mayoritariamente entre C7 y C8<sup>182, 175</sup>, junto con los núcleos motores de los músculos flexo-extensores de muñeca y dedos. sin embargo, las MNs del bíceps están en C4 y C5, en estrecha relación con las de los músculos que controlan el movimiento del hombro. Esta distribución podría indicar un cierto grado de segregación anatomofuncional durante los movimientos locomotrices del brazo, con un centro flexor rostral y otro extensor caudal similar a los descritos en el ensanchamiento lumbar de los gatos, que alternan su activación durante la fase de apoyo y aérea respectivamente<sup>196</sup>. En la marcha bípeda se conserva en esencia este patrón de activación, aunque algo más complejo y con algunas variaciones en las secuencias temporales, probablemente debido a cambios en el contexto biomecánico – el mantenimiento constante del equilibrio inestable propio del bipedalismo requiere mayor control supraespinal<sup>197, 198, 199</sup> - o neurales –diferente ubicación y organización del CGP en cada especie<sup>200</sup> -.

**Tabla 2:** Correlación anatomofuncional del miembro superior humano normal y con lesión medular.

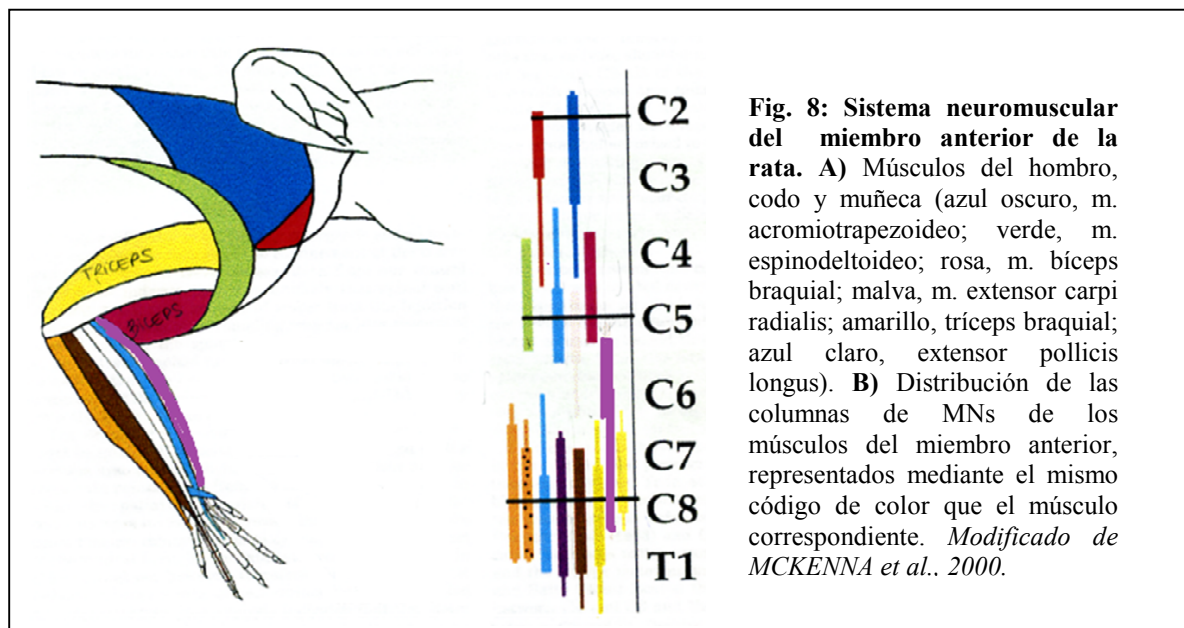
Segmento medular	Columnas de MN presentes	Músculo clave del segmento	Movimientos característicos del segmento	G° dependencia en AVD tras LME en este segmento
C3 – C4	Diafragma +++ Rotadores de hombro +++ Deltoides +		Inspiración Flexión + abducción + extensión del hombro	Dependencia total AVD, incluso de soporte ventilatorio
C5	<b>Bíceps braquial</b> +++ Deltoides ++ Extensores del carpo +	Bíceps braquial	Flexión + abducción + extensión del hombro <b>Flexión-supinación de codo.</b>	Dependencia total AVD. Puede acercarse cosas a la cara si lleva adaptador en la mano
C6	<b>Extensores del carpo</b> +++ Deltoides + Tríceps braquial +	Extensores del carpo	<b>Extensión de la muñeca</b>	Dependencia total AVD. Puede acercarse cosas a la cara si lleva adaptador en la mano. Pinza de tenodesis.
C7	<b>Tríceps braquial</b> +++ Flexores de dedos + Extensores de dedos + Flexores de carpo ++	Tríceps braquial	<b>Extensión del codo</b> Flexión de la muñeca Flexo-extensión de dedos	Dependencia parcial AVD. Puede acercarse y alejarse cosas a la cara. Pinza de tenodesis. Puede apoyarse y pulsarse con los MMSS.
C8	<b>Flexores de dedos</b> +++ Extensores de dedos ++ Tríceps braquialis ++	Flexores de dedos	<b>Flexo – extensión de dedos</b> Extensión del codo	Dependencia parcial AVD. Puede acercarse y alejarse cosas a la cara. Puede apoyarse y pulsarse con los MMSS. Pinza digital y presa palmar, pero débiles.
T1	<b>Intrínsecos de la mano</b> +++ Extensores de dedos ++ Flexores de dedos +	Abductor del quinto dedo	<b>Aducción y abducción de dedos de la mano</b>	Independencia para AVD. Función de MMSS completa.

Se ha resaltado en negrita el núcleo motor mayoritario en cada segmento y el movimiento que caracteriza al músculo clave del mismo. +++ contiene el 50 % o más de las MN del núcleo motor citado; ++ segundo segmento en densidad de MN del núcleo motor; + mínima cantidad de MNs; **MS**: miembro superior; **MMSS**: miembros superiores; **AVD**: Actividades de la vida diaria.

La similitud en la organización de los núcleos motores de la médula cervical de la rata con respecto al humano y la semejanza parcial en la conectividad axonal medular avala el uso de la rata como modelo experimental útil en el abordaje neurofisiológico y neuropatológico de la médula espinal humana normal y después de las lesiones. Por otra parte, aunque el control de los movimientos voluntarios se ha ido progresivamente corticalizando en mamíferos, la médula espinal humana conserva una circuitería intrínseca compleja y abundante. Datos electrofisiológicos relativamente recientes demuestran la existencia en nuestra especie de sistemas propioespinales similares a los descritos en ratas, gatos y primates<sup>201</sup>. Estos circuitos juegan un importante papel en la función del miembro superior normal e incluso parecen facilitar compensaciones que mejoran la

función de la mano en pacientes hemipléjicos tras un accidente cerebrovascular<sup>202</sup>. Sin embargo, no debemos olvidar que incluso compartiendo la mayoría de tractos axonales, en los humanos existen entradas directas corticoespinales a las MNs espinales no descritas en roedores, lo cual probablemente supone una mayor dependencia cortical de la función del codo humano.

La organización de las neuronas en la médula cervical permite desarrollar modelos de lesión que causen daño en grupos selectivos de MNs y/o INs, produciendo trastornos relativamente específicos del segmento<sup>183</sup>. La especificidad funcional segmentaria servirá también para analizar estrategias de regeneración axonal, puesto que si los axones atravesasen la zona de lesión y reinervaran las neuronas del segmento caudal adyacente, podría esperarse un efecto funcional evidente. Así, es imprescindible conocer la función de los músculos dependientes del segmento y la localización y extensión de su núcleo motor para evaluar la función segmentaria en condiciones de normalidad y tras LME. Sólo de este modo se podrá seleccionar la tarea que más adecuadamente lo evalúe<sup>182</sup>.



### 2.3.2. Hemisección medular cervical: relevancia clínica y utilidad experimental.

Aunque en 1825 Dundas publicó por primera vez un caso de “hemiplejia espinal”<sup>203</sup>, hasta 1849 Charles Edouard Brown-Séquard no describiría el síndrome clínico que lleva su nombre y que también se conoce como *hemisección medular*. El síndrome de Brown-Séquard (SBS) se define

como parálisis e hipo o anestesia propioceptiva en el hemicuerpo ipsilateral en el nivel de lesión y por debajo, acompañada de hipo o anestesia termoalgésica una o varias metámeras por debajo del nivel de lesión en el hemicuerpo contralateral<sup>204, 205, 206</sup>. Tradicionalmente se ha asociado con lesiones por arma blanca, pero su etiología puede ser variada y la mayoría de los trabajos que lo abordan lo hacen a partir de casos clínicos singulares, principalmente traumáticos<sup>207, 208</sup> o de origen neoplásico<sup>207, 209</sup>.

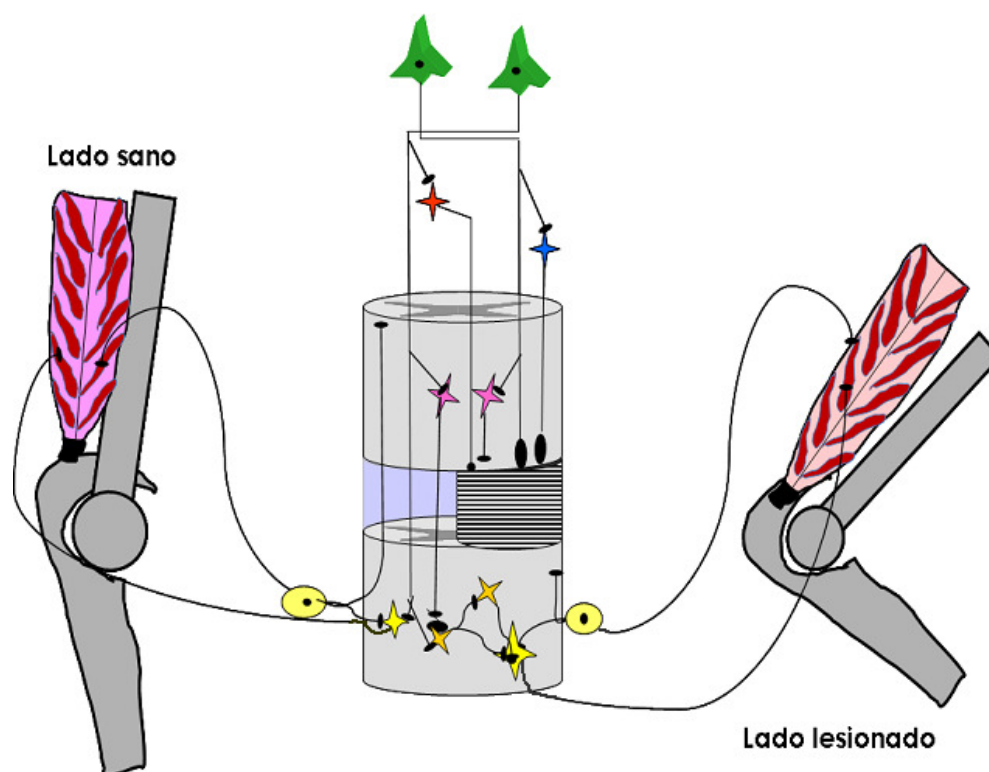
Entre el 1 y el 4% del total de las lesiones medulares se pueden catalogar como SBS, aunque la mayoría presentan diversos grados de hemiparesia asimétrica con hipoalgesia contralateral, forma que conocemos como *SBS-Plus*<sup>210, 203</sup>. En más del 87 % de los casos el nivel de lesión está entre C4 y C8 y el grado de severidad según la escala ASIA es C ó D, lo que indica preservación de cierta cantidad de tejido neural sin daño y normalmente interconectado y explica su buen pronóstico de recuperación al completar el periodo de rehabilitación<sup>211</sup>: entre el 75 y el 90% de los pacientes recuperarán marcha funcional, el 70% serán independientes para la realización de las AVD y más del 80% tendrán control esfinteriano voluntario<sup>212</sup>.

Uno de los aspectos más interesantes del SBS es que posee un patrón característico de recuperación motora. En la práctica totalidad de los casos, incluidos aquellos con parálisis completa inicial, la fuerza voluntaria de los miembros inferiores mejora significativamente desde las primeras 24-48 horas y a lo largo de los primeros 6 meses. Más importante aún es que parece existir un orden en la recuperación de la fuerza en los distintos grupos musculares de la extremidad inferior, de modo que ésta sucede antes en los extensores que en los flexores, en la musculatura proximal que en la distal y en la extremidad contralateral que en la ipsilateral. Es por ello previsible que los mecanismos que median la recuperación en las fases precoz y tardía y en los lados ipsilateral y contralateral sean diferentes. La ganancia funcional de la fase temprana se ha atribuido a la resolución del bloqueo en la conducción de los tractos motores descendentes en el foco lesional por resolución del edema, la isquemia y la hemorragia, mientras que la recuperación tardía parece guardar relación con la arborización axonal colateral a partir de tractos descendentes preservados en la hemimédula contralateral, es decir, a fenómenos de plasticidad neural<sup>213, 214, 215</sup>.

Desde hace más de dos siglos, muchos investigadores han realizado hemisecciones medulares en diversas especies animales para abordar el estudio del sistema nervioso y los mecanismos de recuperación funcional. Buena prueba de ello es el trabajo de tesis doctoral que el propio Brown-Séquard presentó en 1846, que investigaba en perros la aparición y duración del “shock” después de una hemisección y la localización de las estructuras responsables de las deficiencias. Se trata de un modelo ventajoso, pues puede realizarse en cualquier segmento medular sin comprometer mucho la supervivencia y el bienestar de los animales. Además, los sujetos experimentales sirven de control funcional de sí mismos, pudiendo compararse el lado lesionado con el lado sano y permite estudiar los fenómenos de colateralización axonal y sinaptogénesis reactiva, puesto que una hemimédula completa queda intacta y algunos de sus tractos se hipertrofian y reorganizan su conectividad en el lado de la médula dañado<sup>207</sup>. Existe además crecimiento reactivo de las fibras del TCE ventromedial contralateral del foco lesional, que permite la recuperación parcial de la densidad sináptica de este sistema en la zona desinervada<sup>214</sup>, así como una importante colateralización axonal y sinaptogénesis reactiva del TCE en los primates después de hemisección medular cervical<sup>215</sup>.

Se ha utilizado extensamente la hemisección para estudiar la locomoción en lampreas<sup>216, 217</sup>, pollos<sup>218</sup> y primates<sup>215</sup>. Mediante hemisecciones en ratas entre C2 y C5 diversos trabajos, algunos de ellos muy recientes, han aportado datos de gran valor, pues constatan que la afectación del miembro anterior ipsilateral es más grave y crónica que del posterior, aludiendo a un control neural diferente para ellos<sup>22, 207, 219, 24</sup>. Un hecho dificulta sin embargo la interpretación de los mismos y es que, al estar el epicentro lesional en los segmentos medulares cervicales altos, la estabilidad mecánica del hombro se ve comprometida y podría en sí misma responder de parte de las deficiencias detectadas. Nuestro interés en realizar una hemisección en C6 radica por consiguiente en que respeta los núcleos motores de la musculatura flexoextensora y rotadora del hombro, de modo que la estabilidad axial del miembro anterior y la capacidad para protraerla se preservan, a la vez que se eliminan masivamente las aferencias al principal extensor del codo. De este modo, los animales lesionados estarán en capacidad de utilizar el miembro anterior para la locomoción, la fuerza extensora del codo será cuantificable y se podrán relacionar más

certeramente las deficiencias resultantes con el daño medular y sus consecuencias. Este modelo de hemisección C6 (Fig.9) permitiría correlacionar la actividad de un sistema neuromuscular –el TB, su columna de MNs y sus circuitos de control neural- con la ejecución de una tarea motora específica –la producción de fuerza extensora del codo durante la locomoción espontánea- en ausencia y presencia de lesión.



**Fig. 9: El modelo de la hemisección C6 derecha.** Epicentro de la lesión: zona rayada transversal. Se interrumpen las aferencias motoras supraespinales y propioespinales (corticoespinales: verdes; rubroespinal: roja; vestibuloespinal: azul; propioespinales: rosa), así como las sensitivas infralesionales (amarillas redondas: neuronas del ganglio de la raíz dorsal). MN representativa de la columna del TB: amarillo. INs segmentarias: naranja. En el lado lesionado se detecta un déficit de la fuerza extensora del codo.





## *HIPÓTESIS Y OBJETIVOS*



### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1. HIPÓTESIS**

La hemisección medular C6 produciría pérdida severa y permanente de la fuerza extensora del codo y de la flexión de la muñeca, debido a la interrupción simultánea de los axones que descienden del encéfalo y del sistema propioespinal cervical premotoneuronal, cuyos somas se localizan principalmente en C3 y C4. Tales trastornos funcionales deberían ser evidentes durante la locomoción y podrían ser óptimamente cuantificados utilizando técnicas biomecánicas.

#### **3.2. OBJETIVOS**

Caracterizar la biomecánica de la locomoción espontánea de la rata en condiciones de normalidad y tras hemisección medular cervical C6 derecha, para lo cual se pretende:

- 3.1 Identificar qué alteraciones representan deficiencias primarias y cuáles son compensaciones comportamentales que mejoran la función locomotriz.
- 3.2 Evaluar las alteraciones funcionales de las extremidades anteriores y posteriores tras la hemisección, así como su repercusión global sobre la estabilidad y la eficacia de la locomoción resultante.
- 3.3 Analizar la correlación entre la gravedad del trastorno locomotriz y la extensión del daño anatómico medular.
- 3.4 Estudiar la interdependencia de las variables cinéticas y cinemáticas en las distintas fases evolutivas de la lesión medular.
- 3.5 Describir la evolución temporal de los cambios en la locomoción desde la fase aguda hasta la crónica tardía, utilizando variables biomecánicas con significado fisiológico.



## *MATERIAL Y MÉTODOS*



#### **4. MATERIALES Y MÉTODOS.**

##### **4.1. Procedimientos generales.**

##### **4.1.1. Sujetos experimentales.**

Para la realización de este trabajo se utilizaron 60 ratas Wistar adultas de entre 16 y 24 semanas de edad y 380 a 500 g de peso al inicio de los experimentos, criadas en el Hospital Nacional de Paraplégicos y alojadas en jaulas en grupos de dos, con agua y comida *ad libitum* y con ciclos de 12 horas de luz y otras 12 de oscuridad. De ellos, 14 animales se utilizaron para estandarizar la hemisección y los trazadores neurales y los 46 restantes para las evaluaciones biomecánicas de la locomoción y los contajes de MNs.

Los protocolos experimentales cumplían las recomendaciones de la Comunidad Europea y la regulación del Estado Español sobre la protección de los animales de experimentación (86/609/CEE, 32/2007 y 223/1988) y fueron aprobados por el Comité de Ética de Experimentación Animal del Hospital Nacional de Paraplégicos. Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron bajo anestesia general, mediante la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (55 mg/kg), atropina (0.02-0.2 mg/kg) y xilazina (10 mg/Kg), aplicándose dosis suplementarias del 30 % por la misma vía de administración a los 90 minutos si era necesario. Los animales se mantenían a 37 °C mediante una manta termoeléctrica y se aplicaba un ungüento en los ojos para evitar la aparición de abrasiones corneales. En el postoperatorio inmediato y a las 8 y a las 16 horas después, se administraron antibióticos (enrofloxacino, 0.1 ml/Kg) y analgésicos (meloxicam, 2-5 mg/Kg) vía subcutánea para controlar el dolor perioperatorio y evitar infecciones. No se requirieron otros cuidados especiales, puesto que los animales tenían micción espontánea y eran capaces de alimentarse por su cuenta desde el primer día postoperatorio.

##### **4.1.2. Hemisección medular cervical.**

Una vez anestesiado, se colocaba al animal en decúbito prono con las extremidades anteriores

sujetas en extensión. Después de rasurar y esterilizar la zona dorsal desde el cráneo hasta la región escapular, realizábamos una incisión en la piel siguiendo la línea media. Mediante disección con tijeras se disecaban las distintas capas musculares del cuello, profundizando hasta llegar a las apófisis espinosas cervicales. Identificábamos las vértebras cervicales tomando como referencia las grandes apófisis espinosas de T2 y C2 y realizábamos una hemilaminectomía en la vértebra C5 y una incisión en la duramadre para exponer el segmento medular C6. Posteriormente procedíamos a cauterizar la vena dorsal espinal y con la ayuda de unas microtijeras rectas se seccionaba la hemimédula derecha en el tercio medio del segmento en sentido rostrocaudal, tomando como referencia las raíces dorsales. Para asegurarnos de que la hemisección era completa llevábamos a cabo un segundo corte, tras el cual se procedía a controlar el sangrado con toallas hemostáticas (Spongostan ®) y a suturar cuidadosamente por planos musculares, utilizándose para la piel una sutura subcutánea continua, pues habíamos observado durante la estandarización que las grapas cutáneas resultaban molestas y podían interferir con la movilidad del animal en los primeros días tras la lesión. Finalmente administrábamos antiinflamatorios, analgésicos y antibióticos siguiendo el esquema detallado anteriormente, en la sección 4.1.1.

A 11 animales se les realizó sólo laminectomía C5 derecha, siguiendo exactamente los mismos procedimientos excepto la apertura de la duramadre y la hemisección. Nos referiremos a estos animales como “sham”. Posteriormente se cerraba también por planos y se seguían los mismos protocolos de analgesia y profilaxis antibiótica perioperatoria.

#### 4.2. Evaluación biomecánica de la locomoción.

Para poder realizar una descripción detallada y fidedigna de la locomoción espontánea de la rata, se realizaron dos experimentos diferentes. En el *experimento 1*, un total de 26 animales se asignaron de forma aleatoria a uno de los siguientes subgrupos: a) hemisección C6 derecha (n = 15), b) ratas “sham” (n = 6); y c) controles normales (n = 5). La locomoción se registró en todos antes de la lesión y a los 10, 20, 45, 120 y 180 días después de la lesión (DPL). En el *experimento 2*



se comprobó el rigor y la especificidad de los hallazgos del experimento 1, utilizando 20 animales distribuidos como sigue: a) hemisección C6 derecha ( $n = 10$ ), b) ratas “sham” ( $n = 5$ ); y c) animales normales ( $n = 5$ ). Se incluyó aquí una evaluación a los 5 DPL para estudiar las características de la locomoción en fase aguda precoz y se eliminó la de los 180 DPL para evitar sesgos por aumento desproporcionado en el peso y en el intervalo de edad de los animales experimentales.

El análisis biomecánico de la locomoción aporta multitud de parámetros posibles, algunos de ellos con significado redundante. Teniendo en cuenta que después de la lesión no podremos discernir a priori qué parámetros cambian debido a las deficiencias primarias y cuáles por las compensaciones, decidimos seleccionar las variables que tuvieran significado fisiológico, en lo referente a: 1) las fuerzas causantes del movimiento, 2) la organización temporal del ciclo de marcha, 3) las sinergias de flexo-extensión de las extremidades, 4) la postura del cuerpo y las extremidades; y 5) los mecanismos de aceleración y balance corporal.

#### 4.2.1. Dinámica.

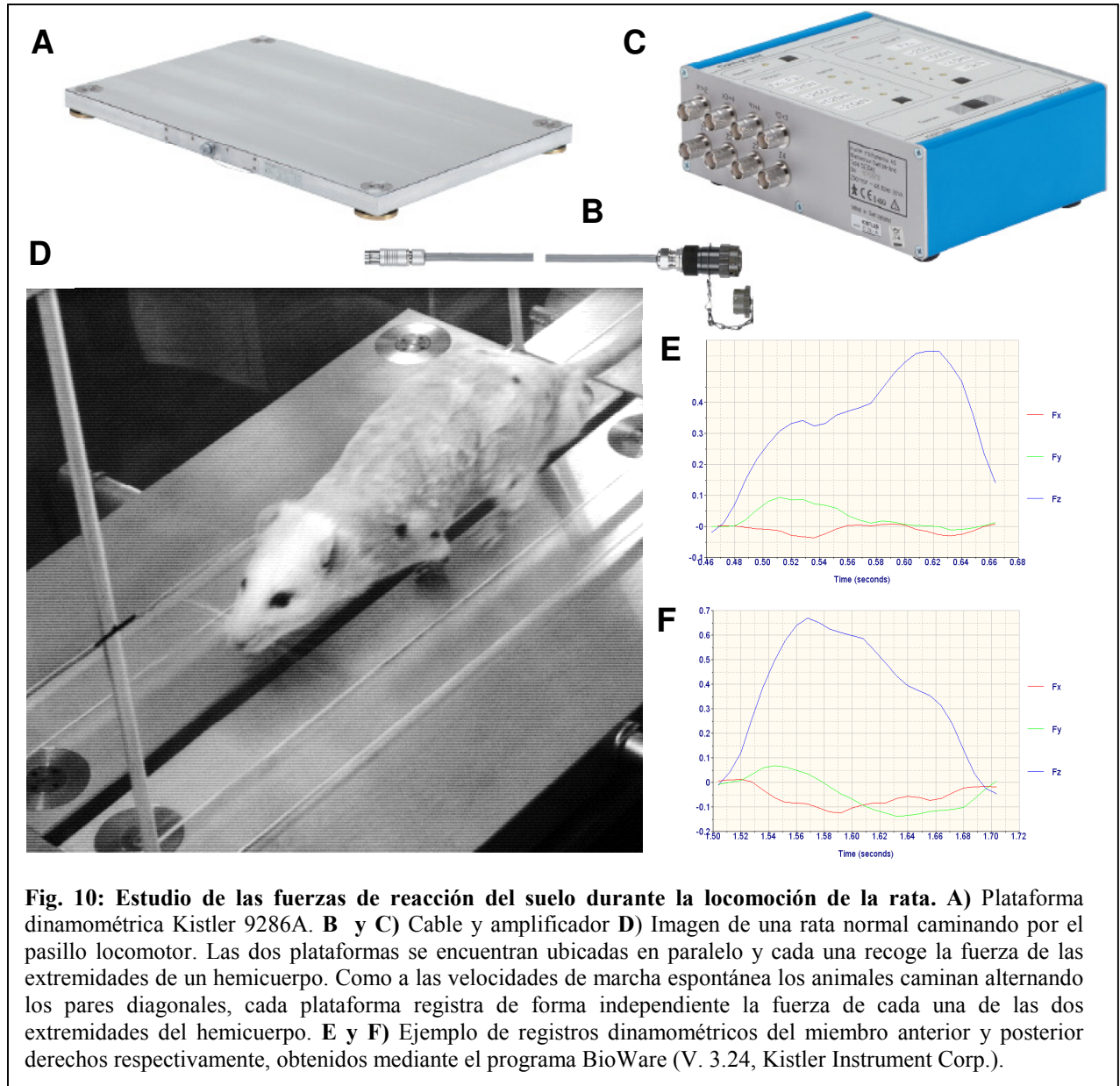
Previamente a las intervenciones quirúrgicas, los animales fueron entrenados a caminar por un pasillo 120 cm de largo por 20 cm de ancho delimitado por paredes transparentes, que terminaba en una caja oscura. En el centro del pasillo había intercaladas dos plataformas dinamométricas multicomponente de 40 cm de longitud y 20 cm de ancho, fabricadas a medida por Kistler Instrument Corp. (Winterthur, Switzerland), a partir de su modelo 9286A. Las plataformas registran los tres componentes cartesianos de las fuerzas de reacción (GRFs) cuando los animales apoyan las extremidades al caminar sobre ellas. La sincronización entre las dos plataformas se realizó mediante un interruptor externo.

En la Fig. 10 se muestran los distintos componentes del equipo utilizado para el análisis de las GRFs. Las plataformas son capaces de registrar entre 0 y 10 kN, siendo posible seleccionar los rangos de medición para incrementar la sensibilidad en los valores menores. Cada plataforma está compuesta por una base metálica que lleva incluidos cuatro sensores piezoeléctricos en sus

esquinas y una cubierta de aluminio, sobre la que pisarán los animales. Cada piezoeléctrico está compuesto por 3 discos de cuarzo, sensibles cada uno a un sólo componente cartesiano. Al contrario que otros sensores de presión, los piezoeléctricos no necesitan calibración previa a la adquisición de los datos. Cualquier fuerza podrá descomponerse en sus tres componentes y la cantidad de señal eléctrica que sale de la plataforma será analógica, directamente proporcional a su módulo y se transmitirá mediante un cable que contiene 8 canales a un amplificador, cuya información finalmente se reconstruirá para dar una única fuerza resultante con sus tres componentes. El amplificador se conecta con un ordenador que tiene insertada una tarjeta de adquisición de datos, cuya función es adquirir y digitalizar las señales. Todo el sistema se controla mediante el programa BioWare software V. 3.24 (Kistler Instrument Corp), que además filtra los datos mediante un algoritmo simple -media dinámica con ventana de 3 datos- que solamente elimina el ruido de alta frecuencia y no distorsiona la forma original de la señal.

Cada uno de los componentes cartesianos de las GRFs representa una acción específica: el componente vertical equivale a la fuerza de soporte antigravitatorio que evita que el cuerpo se caiga e incluso lo eleva cuando supera el peso corporal; el componente longitudinal causa aceleración si va en el sentido del avance y frenado si el vector resultante tiene sentido contrario; por último, el componente transversal alude a las fuerzas de estabilización lateral, que habitualmente tienen el mismo módulo pero sentido opuesto en las extremidades derechas con respecto de las izquierdas. Se pesó a los animales cada día de registro y siempre en la misma báscula, para expresar las fuerzas en porcentaje del peso corporal total correspondiente. Una consideración relevante para la interpretación de los resultados que se presentan en esta tesis es que el módulo de la fuerza de soporte que cualquier animal terrestre debe generar al desplazarse es siempre considerablemente mayor que el de las fuerzas de avance o de estabilización lateral. Como ya apuntamos anteriormente, la gravedad es el principal impedimento para el medio terrestre y esta actúa sólo en dirección vertical, mientras que las fuerzas de fricción que se oponen al avance o al desplazamiento lateral son muy pequeñas y pueden no ser tenidas aquí en cuenta. Así, los déficit asociados a debilidad en un músculo extensor antigravitatorio como el TB alterarán más

intensamente la fuerza vertical de la extremidad anterior durante la fase de apoyo, pudiendo conservarse valores próximos a la normalidad en la extensión desgravitada de esta articulación durante la fase aérea. Este aspecto es aún más importante cuando la tarea a evaluar no demanda los máximos recursos neuromusculares del organismo, como es el caso de la locomoción espontánea sobre una superficie lisa en la rata.



#### 4.2.2. Cinemática.

La Fig. 11 muestra la disposición conjunta de todos los equipos utilizados para el análisis biomecánico de la locomoción de la rata en este trabajo. Los registros dinamométricos se

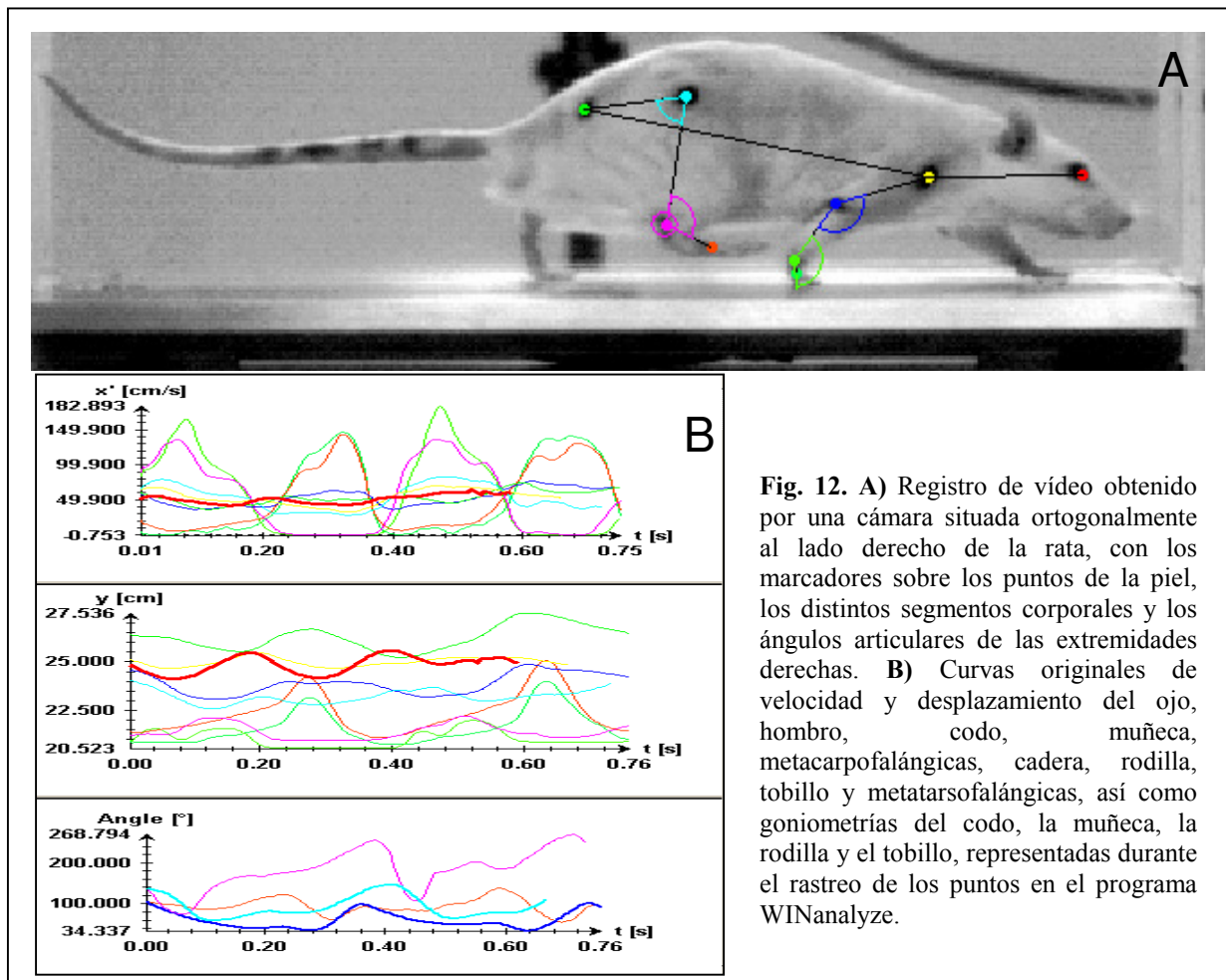
sincronizaron con las imágenes que adquirían tres cámaras digitales de alta velocidad (MotionScope, Redlake MASD Inc., San Diego, USA) con una resolución de 480 x 420 píxeles, velocidad de 125 imágenes por segundo y frecuencia del obturador de 250 Hz. Se utilizaron lámparas de luz incandescente para evitar cambios en el contraste de las imágenes por la luz fluorescente que dificultaran el rastreo. Dos cámaras estaban colocadas ortogonalmente a cada uno de los lados del animal, mientras que la tercera mostraba una visión oblicua superior, que permitía una visualización precisa de las patas durante el apoyo en la correspondiente plataforma (Fig. 10D). Una vez que el interruptor externo ponía en marcha las dos plataformas, éstas disparaban la adquisición de imágenes en las cámaras, existiendo un desfase de 8 milisegundos entre las plataformas y las cámaras que se corregía tras adquirir las señales.

Antes de comenzar el entrenamiento de los animales en el pasillo de marcha, se les afeitaba completamente la piel del tronco y las extremidades y se les marcaban puntos sobre el eje articular de hombro, codo, muñeca, metacarpo, cadera, rodilla, tobillo y metatarso, que servirían posteriormente para su rastreo. Previamente a la hemisección cada animal realizaba al menos diez ensayos locomotrices antes de obtener los registros normales prelesión, que se tomaban cuando la locomoción era continua y no exploratoria. Se capturaron y rastrearon un mínimo de diez y un máximo de quince ensayos locomotrices de cada día explorado pre y postlesión para cada sujeto experimental. Los ciclos en los cuales el animal reducía la velocidad para explorar el entorno se excluían, así como aquellos ciclos postlesión en los cuales el animal no apoyaba alguna de las extremidades anteriores en el suelo.



**Fig. 11: Sala de análisis biomecánico de la locomoción**, dotada de tres cámaras de alta velocidad, sólo dos visibles, dos plataformas dinamométricas intercaladas en un pasillo locomotor, cables conectores y dos amplificadores.

Una vez obtenidos los registros de video, los puntos señalados sobre la piel de los animales se rastrearon mediante el programa de análisis del movimiento WINalyze (V. 2.2, Mikromak GmbH, Münster, Germany), colocando sobre cada uno de ellos un marcador, previa calibración de cada registro. El proceso de rastreo es semiautomático, es decir, es preciso identificar manualmente los puntos en el primer fotograma y luego definir alrededor del marcador las dimensiones de la zona en la que el programa automáticamente buscará el punto en la siguiente imagen (Fig. 12A). Si el marcador se desplaza en exceso del punto tatuado, puede reubicarse en cada imagen manualmente. Una vez rastreada su localización en todas las imágenes que constituyen el registro de vídeo, se utilizan los distintos módulos del programa para definir la posición y orientación de los segmentos corporales a partir de los marcadores y también para calcular automáticamente los ángulos articulares a lo largo de todo el ciclo locomotor. Además, se obtienen directamente la primera y segunda derivadas (velocidad y su aceleración, respectivamente), tanto de los marcadores aislados como de los ángulos o segmentos definidos (Fig. 12B).



**Fig. 12. A)** Registro de vídeo obtenido por una cámara situada ortogonalmente al lado derecho de la rata, con los marcadores sobre los puntos de la piel, los distintos segmentos corporales y los ángulos articulares de las extremidades derechas. **B)** Curvas originales de velocidad y desplazamiento del ojo, hombro, codo, muñeca, metacarpofalángicas, cadera, rodilla, tobillo y metatarsofalángicas, así como goniometrías del codo, la muñeca, la rodilla y el tobillo, representadas durante el rastreo de los puntos en el programa WINalyze.

#### 4.2.3. Análisis y procesamiento de los datos biomecánicos

La marcha cuadrúpeda sobre una superficie lisa es muy estereotipada y su descripción biomecánica se conoce con mucha precisión<sup>2</sup>. Como ya se ha apuntado, el principal factor limitante es la gravedad y la eficiencia locomotriz depende directamente de la capacidad del animal para generar suficiente fuerza de soporte y propulsión durante el apoyo. La fase aérea es indispensable para el avance y el correcto posicionamiento de la extremidad al inicio del siguiente ciclo, de modo que este pueda recibir el cuerpo acelerado. Consecuentemente, tanto los parámetros cinéticos como cinemáticos se analizaron bajo la perspectiva de la generación de fuerza para mantener la velocidad y el equilibrio. Algunos de los datos de dinámica -fuerzas máximas e impulsos- se analizaron tomando directamente los valores de los registros originales filtrados en el programa BioWare sin distorsionar la señal (media dinámica con ventana de 3 datos) y sin procesamiento adicional. El resto de datos de dinámica y todos los de cinemática se exportaron al programa SigmaPlot versión 9.0, SPSS Inc., Chicago, USA, se suavizaron para eliminar ruido de alta frecuencia (Loess, proporción de muestreo 0.2, polinomio de grado 3) y se normalizaron a la duración del ciclo del MAD o el MPD según la variable, promediando al menos 6 ciclos por variable, animal y día de evaluación.

Muchos de los datos cinemáticos fueron convertidos en variables adimensionales dividiendo cada valor instantáneo por su valor al iniciar el apoyo, lo que permitió eliminar la variabilidad debida a los cambios de tamaño del animal a lo largo del seguimiento, además de disminuir en parte los errores asociados a la localización de los puntos en la piel y al desplazamiento de la misma con el movimiento. Esto permitía además que los datos se ajustaran mejor a una distribución normal, lo que corroborábamos mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Los valores medios, máximos, mínimos y el rango de los parámetros cinéticos y cinemáticos se compararon mediante *ANOVA de una vía, dos vías o para datos repetidos* y el *posttest de Holm-Sidak* según el caso. En función de la variable, se consideraban los valores a lo largo de todo el ciclo locomotor o sólo los correspondientes a la fase de apoyo o a la aérea, según se detallará en los

resultados. Unas pocas variables debieron ser comparadas mediante la prueba *t de Student*, puesto que se comparaban sólo dos situaciones experimentales, por ejemplo el peso de los animales de los grupos 1 y 2. El *test Chi-cuadrado* ( $\chi^2$ ) se utilizó para comparar la proporción de ciclos cuya regularidad era distinta de 1. Las regresiones se llevaron a cabo con el mismo programa SigmaPlot. Todos los valores se expresaron como la media  $\pm$  un error estándar (SEM) y se consideraron estadísticamente significativos si la  $p < 0.05$ .

#### 4.3. Histología.

##### 4.3.1. Evaluación de la muerte de MNs del TB.

Es conocido que las contusiones moderadas en C7 causan muerte directa de alrededor del 40 % de las MNs del TB, lo que acarrea déficit crónicos en la extensión del codo<sup>183</sup>. También se ha descrito muerte neuronal transináptica de MNs lumbares después de lesiones torácicas crónicas<sup>220, 221</sup>, y que la muerte preferencial de las MNs más grandes es la causa de la debilidad muscular en ancianos y en algunas enfermedades neurodegenerativas<sup>89</sup>. Cualquiera de estos dos fenómenos podría reducir sustancialmente la fuerza extensora del codo después de una hemisección en C6, por lo que resultaba imprescindible analizar si existía muerte significativa de MNs del núcleo motor espinal del TB y también particularmente del subnúcleo del F lat, puesto que es el que posee las unidades motoras más grandes<sup>175</sup>. Para ello, una vez completado el análisis comportamental, se cuantificó el número de MNs que inervan el TB derecho, previo trazado retrógrado de las mismas. Se detalla a continuación la metodología de marcaje llevada a cabo en cada uno de los dos experimentos realizados.

#### *Experimento 1*

Se utilizó el mismo protocolo de anestesia y cuidado postoperatorio que se ha descrito para la cirugía de la hemisección en la sección 4.1.2. Las MNs del TB derecho se marcaron de forma

retrógrada inyectando aminoetilbamidina metanosulfonato (Molecular Probes; al 4 % en solución salina isotónica) como trazador único en los tres vientres musculares, con objeto de investigar si morían después de la hemisección medular. Se realizó una técnica quirúrgica especial para minimizar la difusión del trazador a otros músculos, consistente en una tenotomía en la inserción olecraniana del TB, para luego introducir una aguja roma paralela a las fibras musculares y liberar el trazador a lo largo del eje longitudinal de cada fascículo. En total se inyectaron 31  $\mu$ l de trazador distribuidos en 10 inyecciones intramusculares, cada fascículo recibiendo un volumen proporcional a su peso (FL, 22  $\mu$ l; F lat, 5  $\mu$ l; FM, 3  $\mu$ l). Pasadas 72 horas se sacrificó al animal mediante una sobredosis de anestésico y se fijó mediante perfusión transcardiaca con suero salino, seguido de paraformaldehído 0.1 M a pH 7.35 con tampón fosfato en perfusión continua, a razón de 0.8 ml por cada gramo de peso corporal. Posteriormente se extrajo la médula espinal y se sumergió por 48 horas en una solución de sacarosa al 30 % en tampón fosfato 0.1M, previamente a su corte en un crióstato.

Los segmentos cervicales de C5 a T1 se cortaron en secciones seriadas de 60- $\mu$ m y posteriormente se montaron para la visualización del marcaje fluorescente. En todas las secciones obtenidas se cuantificaron los perfiles de MNs que tuvieran un núcleo identificable o al menos tres dendritas. En trabajos anteriores del laboratorio<sup>175</sup> se comprobó que este procedimiento, a pesar de sobreestimar en un 15 % de media el número total de MNs, resultaba adecuado para comparar la pérdida relativa de neuronas. Además, el número de MNs del lado derecho se expresó como porcentaje del lado contralateral del mismo animal para minimizar el error debido a la variabilidad interindividual en el marcaje y al procesamiento del tejido y se comparó también este porcentaje con controles no lesionados.

### *Experimento 2*

Se trazó retrógradamente de manera independiente cada uno de los tres subnúcleos de la columna de MNs del TB, utilizando tres trazadores distintos -dextran tetrametil-rodamina (DTMR, 3000 MW, Molecular Probes, 10 % en 0.1 M PBS, pH 7.35), fast blue (FB, Polysciences, 2 % en



solución salina isotónica) y dextran alexa 488 (DA, Molecular Probes, 5 % en PBS 0.1 M, pH 7.35).

Una vez el animal se encontraba en anestesia profunda, se realizaba una incisión en la piel desde la región axilar hasta el codo para exponer e identificar correctamente la arteria humeral y el nervio radial. Mediante disección anatómica cuidadosa del compartimento dorsomedial del miembro anterior identificábamos las ramas terminales de los fascículos del TB y las seccionábamos lo más cerca posible del punto de entrada al músculo. Se ponía en contacto la rama recién axotomizada con 5 µl de trazador durante una hora mediante un reservorio. Repetíamos este procedimiento para cada una de las tres ramas y una vez terminado, se cerraba por planos y se administraban antiinflamatorios y antibióticos según la pauta descrita para la hemisección<sup>175, 222</sup>. Tres días después, se procedía al sacrificio del animal para la extracción la médula espinal y posterior preparación de los cortes de 60-µm desde C5 a T1, que se montaban para su cuantificación siguiendo la misma metodología que en el experimento 1.

#### 4.3.2. Evaluación de la zona de lesión.

Una vez concluido el recuento de las MNs, los cortes de tejido fueron teñidos con hematoxilina-eosina (H&E), para determinar la localización exacta del epicentro de la lesión y su extensión tanto transversal como longitudinal. Se añadió al protocolo habitual un paso intermedio de 30 minutos en cloroformo para eliminar los lípidos y mejorar la penetración de la tinción en los cortes de 60-µm.

La extensión longitudinal de la lesión la definía la distancia entre el corte de H&E más rostral y el más caudal con evidencia de daño tisular, teniendo cuidado en excluir aquellos en los que había sólo signos de daño axonal compatible con degeneración Walleriana<sup>183</sup>.

Finalmente, se cuantificó la sustancia blanca y gris preservada transversalmente en el epicentro de la lesión, utilizando fotografías de los cortes teñidos con H&E tomadas con un objetivo de 20 aumentos mediante un sistema de microscopia de imagen digital (Olympus Europa Holding GMBH, DP50; Hamburgo, Alemania). Las imágenes resultantes, de 2776 x 2074 píxeles

se calibraron y procesaron en el programa ImageJ (1.39u, NIH, Bethesda, MD). Para evitar errores debidos al encogimiento del tejido, los datos obtenidos para la hemimédula derecha se expresaron como porcentaje de la hemimédula contralateral del mismo animal y en el mismo corte. Se comparó también el área respetada con controles no lesionados. Se investigó la relación entre la cantidad de conectividad preservada -inferida a partir del área de sustancia blanca presente en el plano transversal de la lesión y del número de motoneuronas del TB derecho marcadas por transporte retrógrado- y la contribución funcional de las extremidades a la marcha.

## *RESULTADOS*



## 5. RESULTADOS

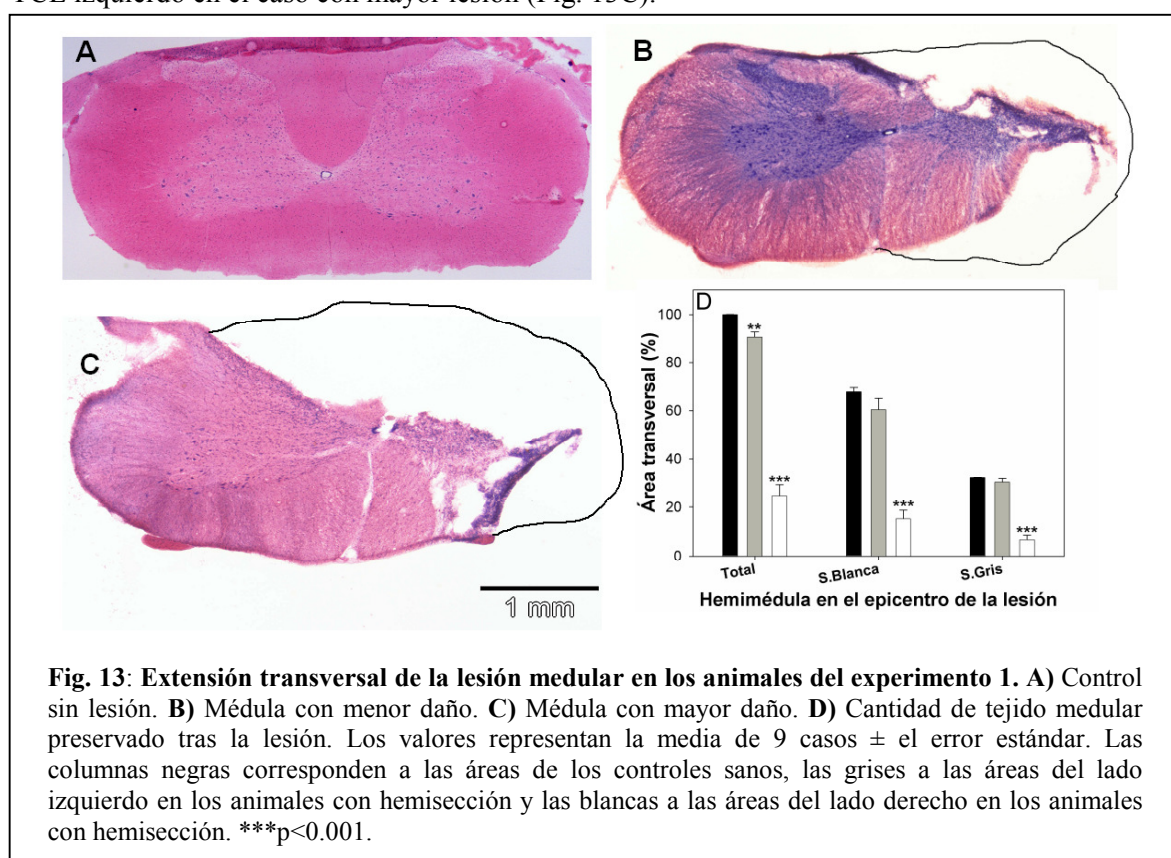
### 5.1 Daño histológico y biomecánica de la locomoción tras la hemisección medular C6. Experimento 1.

#### 5.1.1 Verificación de la lesión medular

Nuestro objetivo era que la hemisección medular se extendiera lo mínimo posible en el sentido longitudinal, de manera que no hubiera muerte significativa de neuronas en el segmento lesionado y que la gran mayoría de alteraciones funcionales se debiera a la interrupción de los tractos axonales descendentes y ascendentes. También pretendíamos que la lesión medular fuera exclusivamente unilateral en el plano transversal, de modo que dañara totalmente la hemimédula derecha y dejara indemne la izquierda. Así, el lado derecho por debajo de C6 se privaría de todas las entradas supra y propioespinales (C1–C5) que descienden ipsilateralmente, mientras que el izquierdo estaría casi intacto.

Previamente al procesamiento histológico se identificaron los distintos segmentos medulares de C5 a T1, confirmándose que en todos los casos la lesión se hallaba en la transición C6-C7 y en promedio se extendía  $1.02 \pm 0.2$  mm en el eje longitudinal. En este primer experimento la hemisección dañaba transversalmente la mayor parte del lado derecho, aunque hubo cierta variabilidad, en algunas ocasiones dejando sin lesionar la región ventromedial derecha y en otras dañando la zona posteromedial izquierda. Cuantificamos el área medular preservada en cada lado de forma global o diferenciando entre sustancia gris y blanca. Para limitar el error diferencias en el encogimiento del tejido, se compararon los datos en porcentaje del área total de la hemimédula. En los animales control, las áreas de la sustancia blanca y gris fueron  $67.61 \pm 1.791$  % y  $32.4 \pm 0.047$  %, respectivamente, sin que hubiera diferencias estadísticamente significativas entre un lado y otro de la médula (t test,  $p = 0.322$ ). Esta simetría nos permitió comparar la cantidad de tejido medular presente en los animales con hemisección, tomando como molde el lado sano para reconstruir el lado lesionado. La Fig. 13 muestra la cuantificación del área medular preservada y también

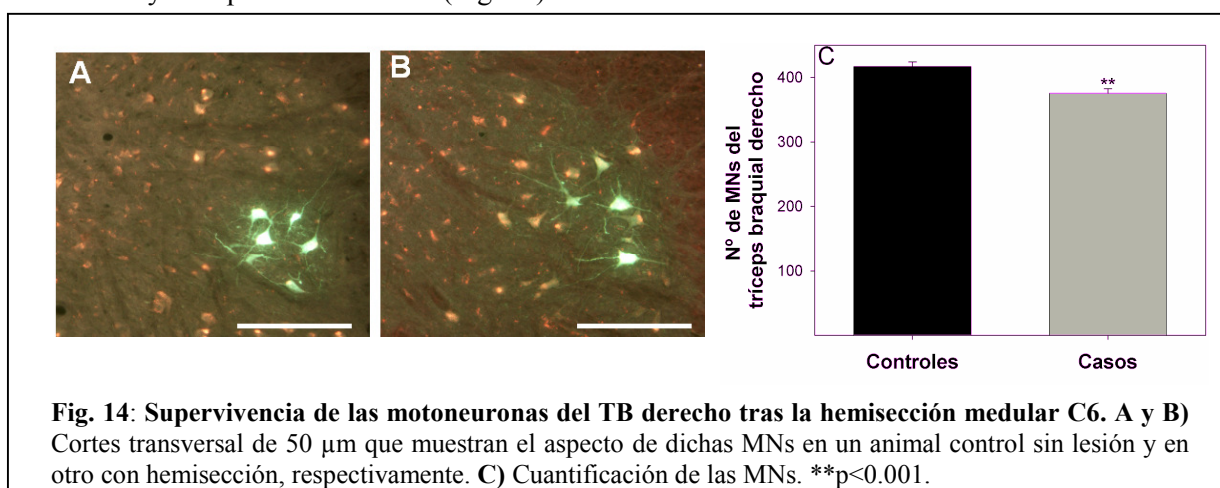
fotografías de las médulas con menor y mayor lesión, teñidas con H&E. Como puede observarse, la hemisección dañó en promedio el 75 % del lado derecho y alrededor del 8 % del izquierdo. La zona derecha preservada correspondía mayoritariamente a los tractos axonales ventromediales, aunque en el caso con menor lesión (Fig. 13B) también se preservó una porción de la sustancia gris ventromedial y el tracto corticoespinal (TCE) derecho. Por otra parte, en la mitad de los casos se seccionaron parcialmente los fascículos grácil y cuneiforme del lado izquierdo, y también parte del TCE izquierdo en el caso con mayor lesión (Fig. 13C).



### 5.1.2 Supervivencia de las motoneuronas del tríceps brachii

Estudios previos mostraron que la muerte de las neuronas del TB contribuye a las alteraciones neurológicas crónicas que se observan tras LME por contusión en C7<sup>183</sup>. Con el modelo de hemisección en la parte distal de C6 intentábamos desinervar los segmentos que contienen las MNs del TB sin causar su muerte, con el fin de cuantificar los trastornos debidos al daño de los tractos axonales. Por consiguiente, estudiamos la supervivencia de las MNs en 8 animales del experimento

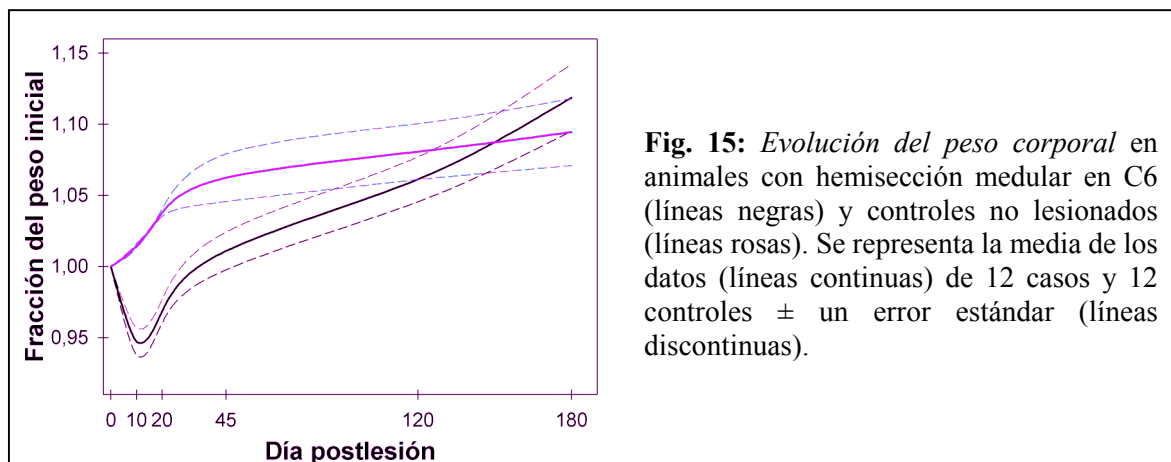
1, marcándolas retrógradamente por inyección intramuscular de aminoestilbamidina y luego contándolas en cortes transversales de la médula, previamente al procesamiento del tejido con H&E. La localización del núcleo motor del TB fue similar a la previamente descrita<sup>183, 175</sup>, extendiéndose desde el tercio caudal de C6 hasta la parte craneal de T1, con una mayor concentración en los segmentos C7 y C8. Solo se detectó una pérdida del 10 % de MNs en el lado de la hemisección ( $375 \pm 7$  MNs en los casos, vs.  $417 \pm 7$  en los controles. t-test,  $p < 0.01$ ), que ocurrió en el inicio de la columna y se debía a necrosis directa por la misma. Las MNs ubicadas sólo unas pocas micras caudalmente, tenían buena apariencia en cuanto a tamaño, presencia de dendritas y transporte del trazador (Fig. 14).



### 5.1.3. Evolución de la masa corporal

En este trabajo utilizamos animales adultos para minimizar la influencia de las variaciones de las dimensiones corporales sobre los parámetros biomecánicos. No se esperaban cambios morfológicos importantes, exceptuando alguna variación en la masa, cuya evolución en el grupo control y en los animales con hemisección C6 derecha se muestra en la Fig. 15. Los animales sin lesión mostraron una ganancia pequeña pero sostenida de masa durante los seis meses de seguimiento. Por el contrario, las ratas a las que se les realizó hemisección medular perdieron alrededor del 5 % de masa a los 10 días post-lesión [DPL] (ANOVA para medidas repetidas  $p < 0.001$ ; posttest de Holm-

Sidak [HS]  $p < 0.01$ ), la recuperaron entre los 20 y los 45 días y luego continuaron incrementándola paulatinamente hasta el final del seguimiento, momento en que tanto lesionados como controles habían ganado alrededor del 10 % de su masa corporal inicial ( $p < 0.01$ ), a pesar de que la masa media de las lesionadas tendía a ser levemente superior.



#### 5.1.4. Uso relativo de las extremidades

Antes de describir las alteraciones biomecánicas observadas durante el ciclo locomotor, evaluamos de forma general si la lesión causaba una menor utilización de alguna de las extremidades (MAD = miembro anterior derecho; MAI = miembro anterior izquierdo; MPD = miembro posterior derecho; MPI = miembro posterior izquierdo). En los animales normales entrenados para la marcha espontánea se contabilizó siempre el mismo número de apoyos de cada una de las cuatro extremidades, mostrando que se usan por igual, bien se considerasen de forma aislada, como pares diagonales o como tren anterior y posterior. Además, la secuencia de apoyos fue muy estereotipada, iniciando por un miembro anterior seguido del miembro posterior contralateral *—par diagonal—* tras lo cual se apoyaba el otro miembro anterior que iniciaba el par diagonal contrario. El desfase entre el apoyo de los pares diagonales era cercano al 50 % de la duración del ciclo, indicativo de una marcha simétrica. Esta secuencia se repetía cíclicamente siempre que el animal no modificara su estilo locomotriz, por ejemplo para detenerse a explorar el entorno. Además de cambiar el patrón, en los ciclos exploratorios se reducía la velocidad, por lo que se excluyeron del



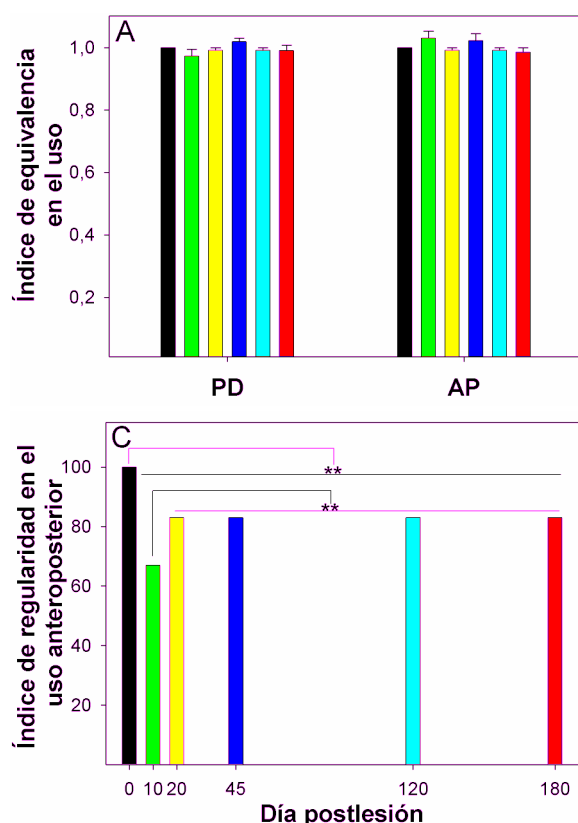
análisis.

Dos días tras la hemisección medular los animales eran capaces de levantarse sobre sus extremidades posteriores y alimentarse, aunque en ese momento su marcha era bastante desestructurada y difícil. El hemicuerpo derecho estaba parético, con más afectación del MAD. Para el momento en que se iniciaron los estudios biomecánicos, todos los animales apoyaban el MAD durante la marcha, aunque por tiempo variable, con evidencia de claudicación y a veces con la garra cerrada. En algunos ciclos no se apoyaba y en otros lo hacía dos veces, resultando un promedio de apoyos similar para las cuatro extremidades. Definimos entonces dos índices de equivalencia en el uso de las extremidades:

$$\text{Equivalencia diagonal} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ apoyos MAD} + \text{N}^\circ \text{ apoyos MPI})}{(\text{N}^\circ \text{ apoyos MAI} + \text{N}^\circ \text{ apoyos MPD})}$$

$$\text{Equivalencia antero-posterior} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ apoyos MAD} + \text{N}^\circ \text{ apoyos MAI})}{(\text{N}^\circ \text{ apoyos MPD} + \text{N}^\circ \text{ apoyos MPI})}$$

Al comparar las medias confirmamos que no habían diferencias significativas en ninguno de los índices en todo el periodo postlesión (ANOVA para medidas repetidas,  $p = 0.337$  y  $p = 0.226$ , respectivamente) (Fig. 16A). Sin embargo, los valores postlesión siempre eran menores o mayores de 1, exhibiendo una variabilidad muy pequeña pero sistemática que no se detectaba en ausencia de lesión y que parecía corresponder a la necesidad de hacer correcciones en una tarea que no lo precisa nunca en condiciones de normalidad. Para cuantificar estas alteraciones se calculó la regularidad, es decir, el porcentaje de veces que los índices daban valores igual a 1. Así, en todos los DPL se detectaron ciclos de marcha con alteraciones en la equivalencia diagonal ( $\chi^2$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 16B) y en la antero-posterior ( $\chi^2$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 16C), siendo más numerosos en la primera evaluación postlesión (10 días). La equivalencia diagonal, más que mostrar una normalización progresiva, tuvo oscilaciones de mayor y menor alteración a partir de los 20 DPL ( $\chi^2$ ,  $p < 0.05$  entre 20 vs. 120 DPL y 45 vs. 180 DPL).

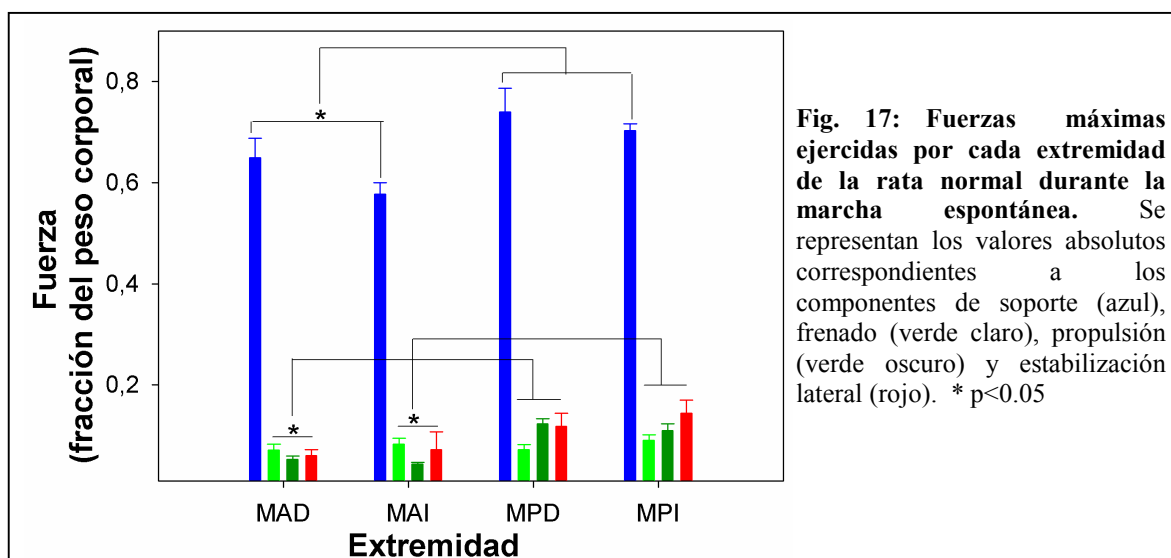


**Fig. 16: Uso de las extremidades antes y después de la lesión.** A) Índices de equivalencia en el uso de los pares diagonales (PD) y antero-posteriores (AP). B) y C), regularidad en el uso de los PD y AP, respectivamente, medida como el porcentaje de casos en los que la equivalencia de su uso resultaba igual a 1. Las columnas representan los datos de los controles (negro) y los casos a 10 (verde), 20 (amarillo) 45 (azul oscuro), 120 (azul claro) y 180 (rojo) DPL. \*\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ .

### 5.1.5 Dinámica

Inicialmente comparamos las fuerzas máximas registradas para cada extremidad, ya que este parámetro debería ser el más sensible para detectar deficiencias en tareas que no exigen esfuerzos límite, tal como la marcha a velocidad espontánea. En la rata normal, la fuerza vertical (soporte) tiene un módulo diez veces superior al de las fuerzas en el eje horizontal de avance (frenado y propulsión) y lateral (estabilización) en todas las extremidades (Fig. 17). La fuerza máxima de soporte fue aproximadamente un 20 % mayor en los miembros posteriores que en los anteriores (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), pero no hubo diferencia entre los lados del cuerpo. No se registraron diferencias entre las 4 extremidades en la fuerza de frenado, pero la fuerza máxima de propulsión ejercida por los miembros posteriores duplicó la de los anteriores (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Las fuerzas laterales siguieron un patrón similar a las de propulsión, siendo

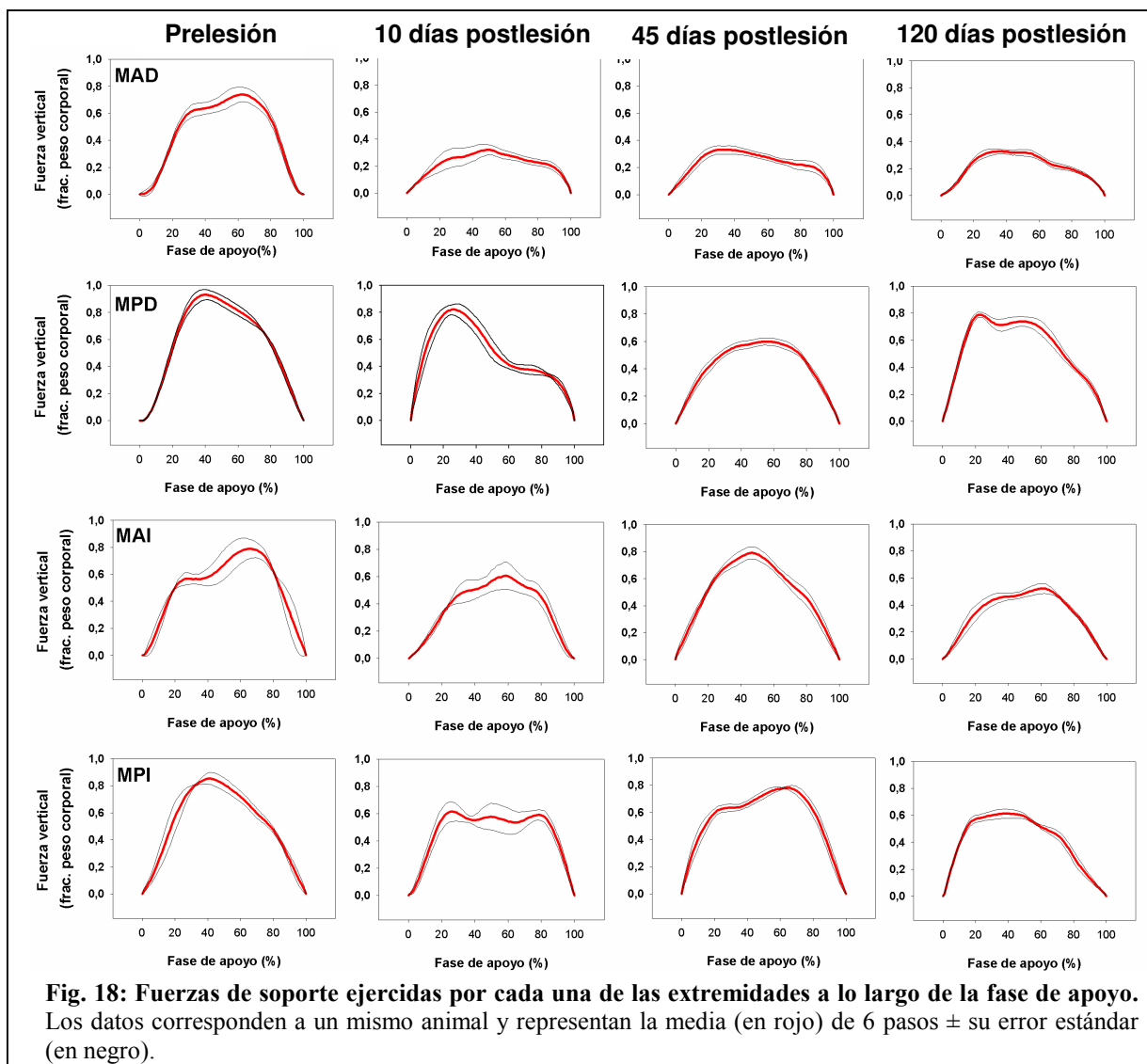
el doble en los miembros posteriores en comparación con los anteriores (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), sin diferencias entre miembros derechos e izquierdos.



#### 5.1.5.1 Fuerzas de soporte tras la hemisección medular

Durante la marcha, el soporte demanda a cada extremidad fuerzas máximas que oscilan entre el 57 y 74 % del peso corporal (Fig. 17), mucho mayores que para propulsar y por tanto más susceptibles de alterarse por la LME. Para comprender mejor las deficiencias y compensaciones tras la hemisección, resultó útil representar las fuerzas verticales a lo largo de toda la fase de apoyo. La Fig. 18 muestra las curvas de fuerza de soporte prelesión y postlesión de un caso individual representativo.

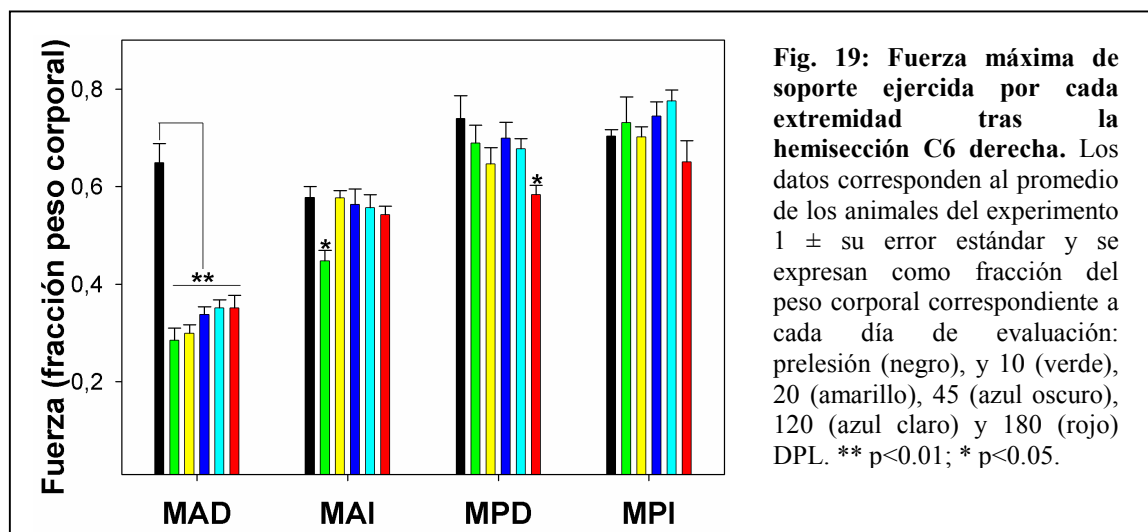
En condiciones normales, la curva de fuerza de las extremidades presenta dos picos, al final del primero y el segundo tercio del apoyo, respectivamente. Sin embargo, para las extremidades posteriores el valor máximo se alcanza en el primer pico, mientras que para las anteriores ocurre en el segundo. Al inicio del apoyo el torque es mayor sobre los miembros posteriores, pero se aumenta sobre los anteriores cuando se transfiere parte de la carga corporal acelerada. Esto es consecuencia del avance del centro de masas en relación con la posición de los apoyos de las extremidades de cada par diagonal.



Aunque el TCE y los tractos ventromediales del lado derecho estaban parcialmente preservados en este animal (Fig. 13B), la lesión disminuyó en más del 50 % la fuerza máxima de soporte ejercida por el miembro anterior ipsilateral (MAD), persistentemente a lo largo de todo el periodo de evaluación y de forma similar a aquellos animales en los que la hemisección fue completa. Además, en la curva de fuerza desapareció el segundo pico, evidenciando la incapacidad del MAD para recibir la carga del centro de masas y elevarlo en la segunda mitad del apoyo. Las otras tres extremidades también modificaron sus fuerzas en los distintos tiempos explorados, pero sin reducción persistente de las máximas. Un aspecto muy relevante es que en el miembro posterior ipsilateral a la lesión (MPD) no se perdió el pico máximo en el primer tercio del apoyo al día 10 postlesión, confirmando la afectación funcional preferente del miembro anterior. Los cambios

siguientes en las curvas de fuerza del MPD, MAI y MPI pueden entonces interpretarse como compensaciones para obtener locomoción efectiva a pesar de los trastornos focales del MAD, y en los apartados siguientes se presenta un conjunto extenso de datos que apoya esta interpretación. Tales compensaciones nunca fueron definitivas, sino que implicaron reajustes constantes probablemente en relación con los cambios de la masa corporal (Fig. 15).

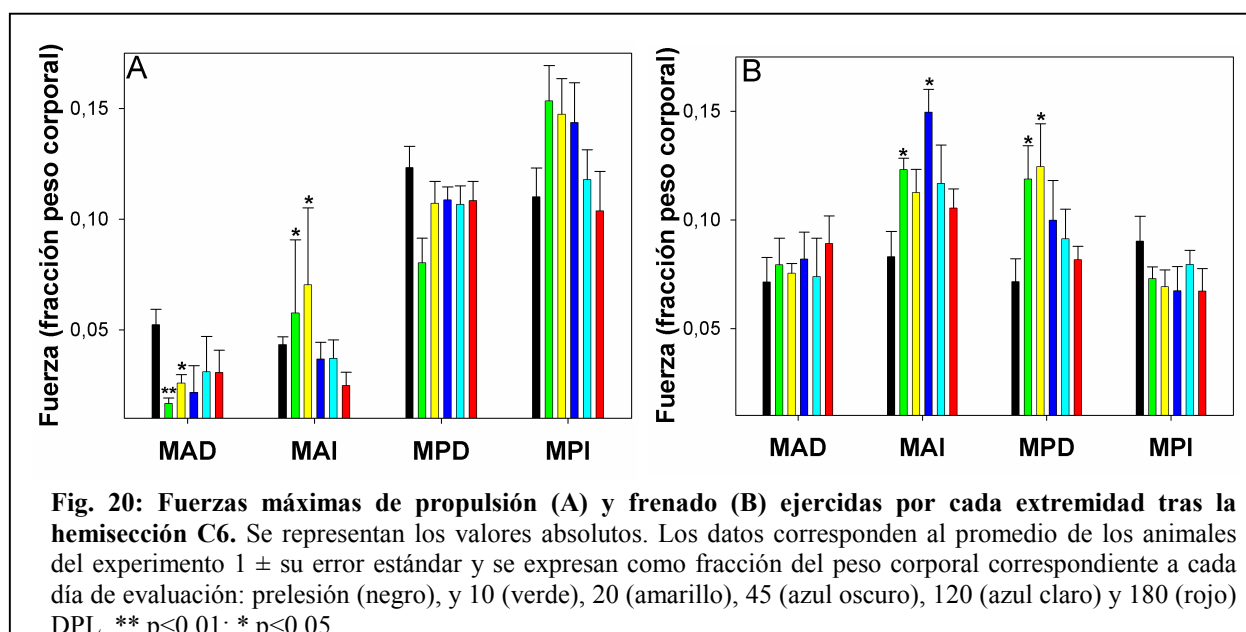
Estas observaciones avalaron nuestra decisión de utilizar la fuerza máxima de soporte como principal indicador de la capacidad funcional de las extremidades. En la Fig. 19 se presentan los valores obtenidos para el grupo completo de animales del experimento 1, que confirmaron la pérdida dramática de fuerza del *MAD* (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), sin evidencia de recuperación incluso en estadios muy crónicos, pues aunque hubo una leve tendencia hacia la mejoría entre los 10 y 120 DPL, esta no fue estadísticamente significativa. En el *MAI* sin embargo, la fuerza máxima descendió alrededor del 15 % a los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), recuperándose a los 20 días y manteniéndose normal a partir de entonces. El *MPD*, ipsilateral a la hemisección, no mostró disminución de la fuerza inmediatamente después de la lesión, pero a los 180 días se redujo un 20 % (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). No se hallaron cambios significativos entre las fuerzas máximas del *MPI*.



#### 5.1.5.2 Fuerzas de propulsión y frenado

Tras la hemisección, las *fuerzas máximas de propulsión* se redujeron notoriamente en el *MAD*,

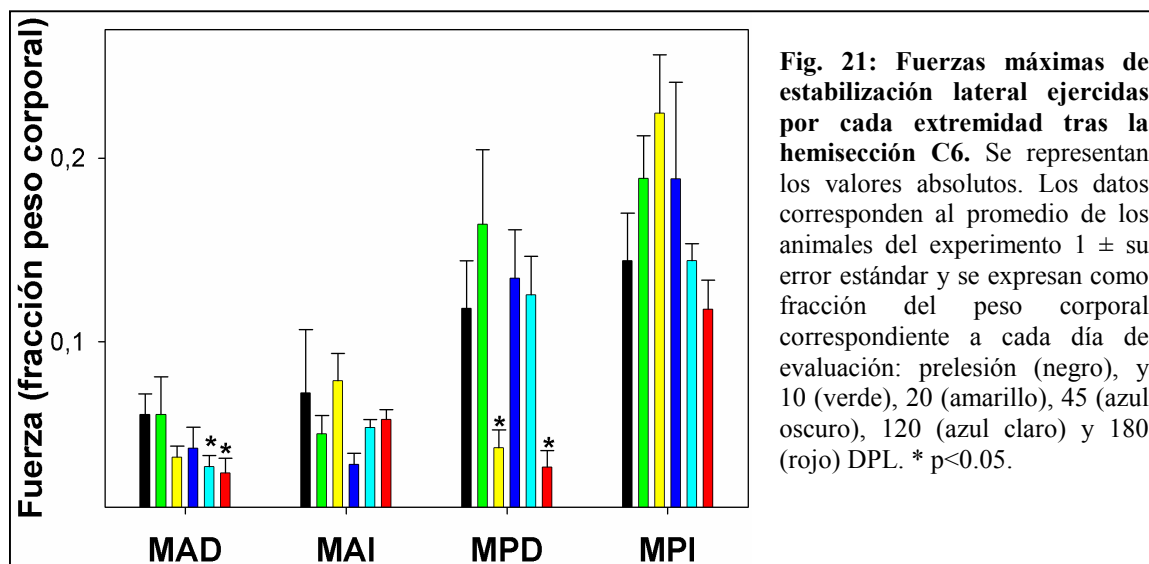
aunque sólo se alcanzó significación estadística a los 10 y 20 DPL (t-test para datos pareados,  $p<0.01$  y  $p<0.05$  respectivamente). Por el contrario, en el *MAI* aumentaron cerca de un 30 % esos mismos días (t-test para datos pareados,  $p<0.05$ ). En los miembros posteriores hubo tendencias muy parecidas, aunque tampoco fueron estadísticamente significativas (Fig. 20A). Por otra parte, las *fuerzas máximas de frenado* no se modificaron en el *MAD*, mientras que en el *MAI* se aumentaron ~ 50 % a los 10 días y ~ 90 % a los 45 días (t-test para datos pareados,  $p<0.01$  y  $p<0.05$ , respectivamente). En el *MPD*, el frenado aumentó a los 10 y 20 DPL (t-test para datos pareados,  $p<0.01$  y  $p<0.05$  respectivamente), pero en el *MPI* no hubo cambios significativos (Fig. 20B). En resumen, se detectó una disminución importante de la propulsión con el *MAD* y ajustes en el ciclo de marcha, con aumento de la propulsión de las extremidades izquierdas y aumento del frenado por el par diagonal *MAI/MPD*. En otras palabras, las extremidades que no presentan pérdida permanente de fuerza son capaces de participar en mecanismos compensatorios que implican sobreuso desde los momentos más tempranos postlesión.



### 5.1.5.3. Fuerzas de estabilización lateral

Tras la hemisección, estas fuerzas también evidenciaron la necesidad de continuos reajustes del ciclo locomotor (Fig. 21). Los valores promedios disminuyeron sólo en los registros más crónicos y

en el hemicuerpo ipsilateral a la lesión: a los 120 y 180 DPL para el *MAD* (t-test para datos pareados,  $p < 0.05$ ) y a los 20 y los 180 DPL para el *MPD* (t-test para datos pareados,  $p < 0.05$  y  $p < 0.01$  respectivamente). En el *MAI* y *MPI* las variaciones no alcanzaron significación estadística.



### 5.1.6 Cinemática

#### 5.1.6.1 Parámetros temporales del ciclo de marcha

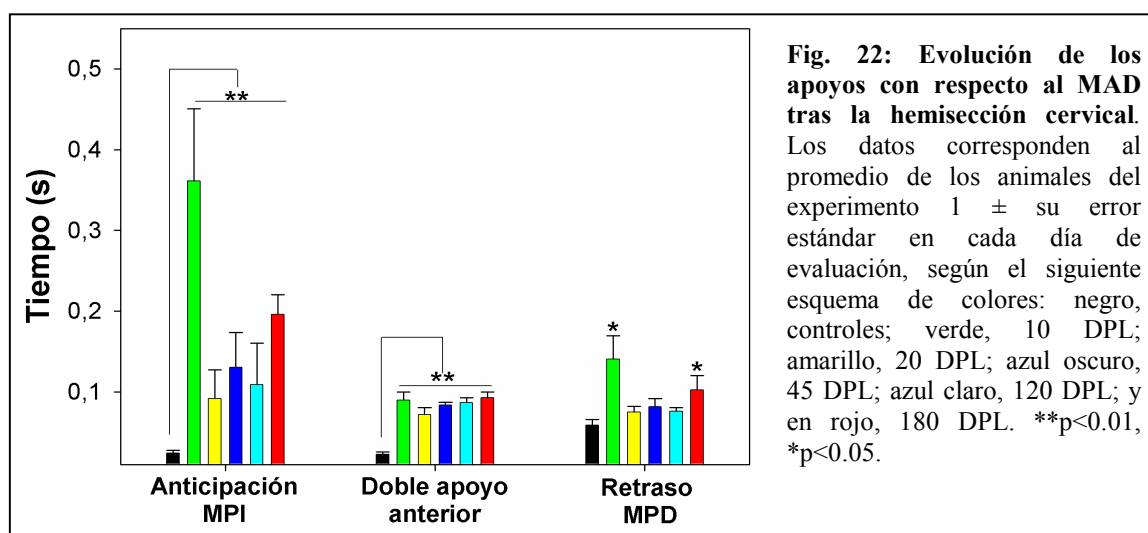
Los animales con hemisección cervical modificaron los apoyos (Fig. 22) y mostraron un patrón de adaptaciones similar al arriba descrito, pero sólo en algunas de las extremidades (Fig. 23), lo que llevó a un estilo locomotor asimétrico.

#### Secuencia temporal de los apoyos en cada par diagonal

Después de la hemisección C6, encontramos que el MAD claudicaba y el animal apoyaba antes el MPI para estabilizarse. La anticipación del MPI con respecto del MAD aumentó significativamente en todos los tiempos postlesión (ANOVA  $p < 0.001$ ), y a los 10 días con respecto de los 20, 45, 120 y 180 días, así como a los 180 días con respecto de los 20, 45 y 120 días (posttest HS  $p < 0.05$ ). Como se observa en la Fig. 22, a los 10 DPL el MPI se anticipa al MAD alrededor de 0.3 s. Teniendo en cuenta que en dicho momento la duración media del ciclo es aproximadamente 0.3 s (Fig. 23), tal fenómeno traduce una disociación del par diagonal, congruente con la variabilidad

descrita para los índices de equivalencia de uso de las extremidades. Tras una normalización parcial de este parámetro a los 20, 45 y 120 días, se registró un nuevo incremento estadísticamente significativo a los 180 días con respecto a los tiempos previos, que no apareció en el par diagonal contralateral. No sólo el MPI modificó sus apoyos con respecto al MAD, sino también el MAI y el MPD lo hicieron después de la hemisección (Fig.23). El apoyo del MAI se adelantó, se aumentó siempre más de un 100% el tiempo en el apoyaba simultáneamente con el MAD (ANOVA de una vía  $p<0.01$ ; posttest HS  $p<0.05$ ). El despegue del MPD se retrasó significativamente a los 10 y los 180 DPL (ANOVA de una vía  $p<0.01$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

Las modificaciones del momento de apoyo de las otras tres extremidades permitieron compensar la pérdida de estabilidad durante el apoyo del MAD, aunque de forma parcial.



#### Duraciones de las fases y del ciclo de marcha

**MAD:** La fase de apoyo solo se incrementa un 10 % a los 180 DPL, lo que se traduce en un alargamiento del ciclo de dicha extremidad (ANOVA de una vía  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). La fase aérea se alarga a los 10 DPL (ANOVA de una vía  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ), retornando posteriormente a los valores prelesión.

**MPI:** se prolongan la fase de apoyo y el ciclo en todos los tiempos postlesión (ANOVA  $p<0.001$ ), siendo aún mayor dicho aumento a los 10 y a los 180 DPL. Existen diferencias significativas entre ellos y el resto de tiempos explorados postlesión (posttest de HS  $p<0.05$ ). A los

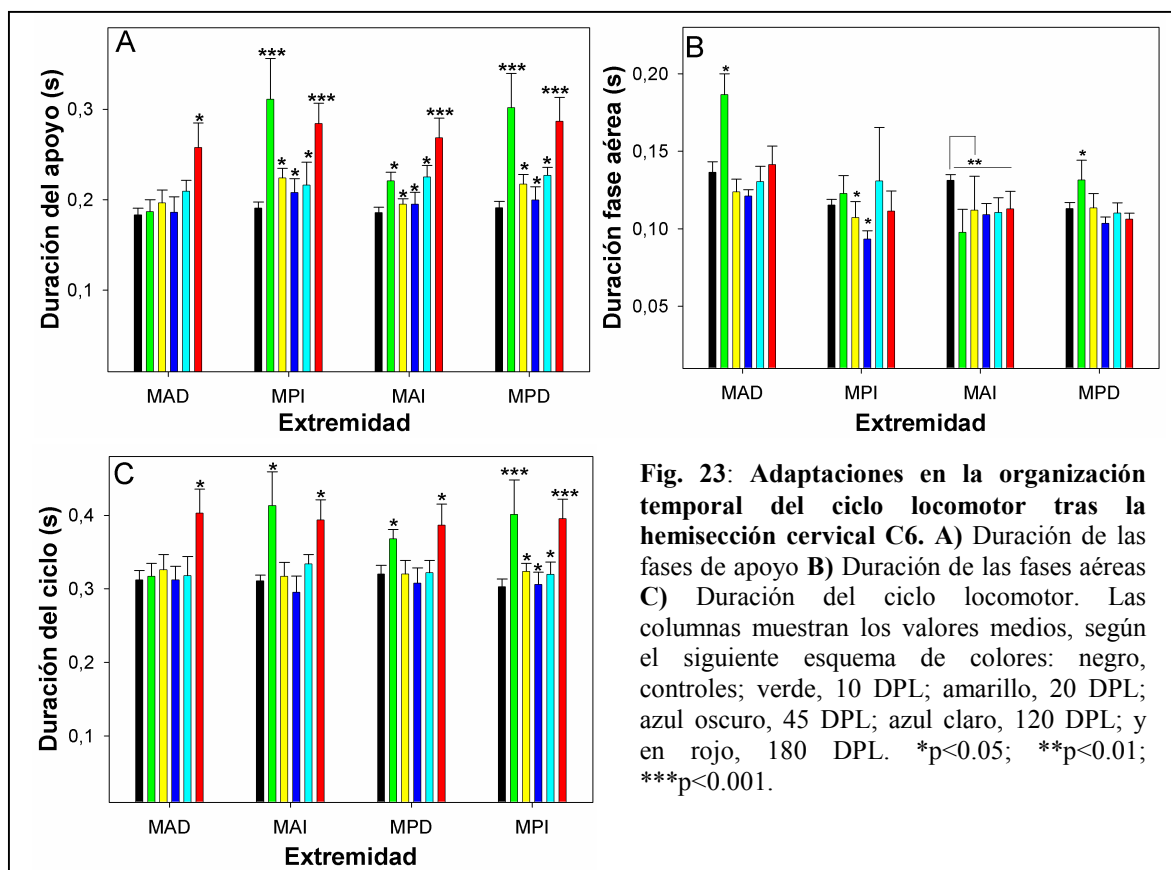


20 y a los 45 DPL, la duración de la fase aérea se acorta con respecto a la prelesional y la de los 10, 120 y 180 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

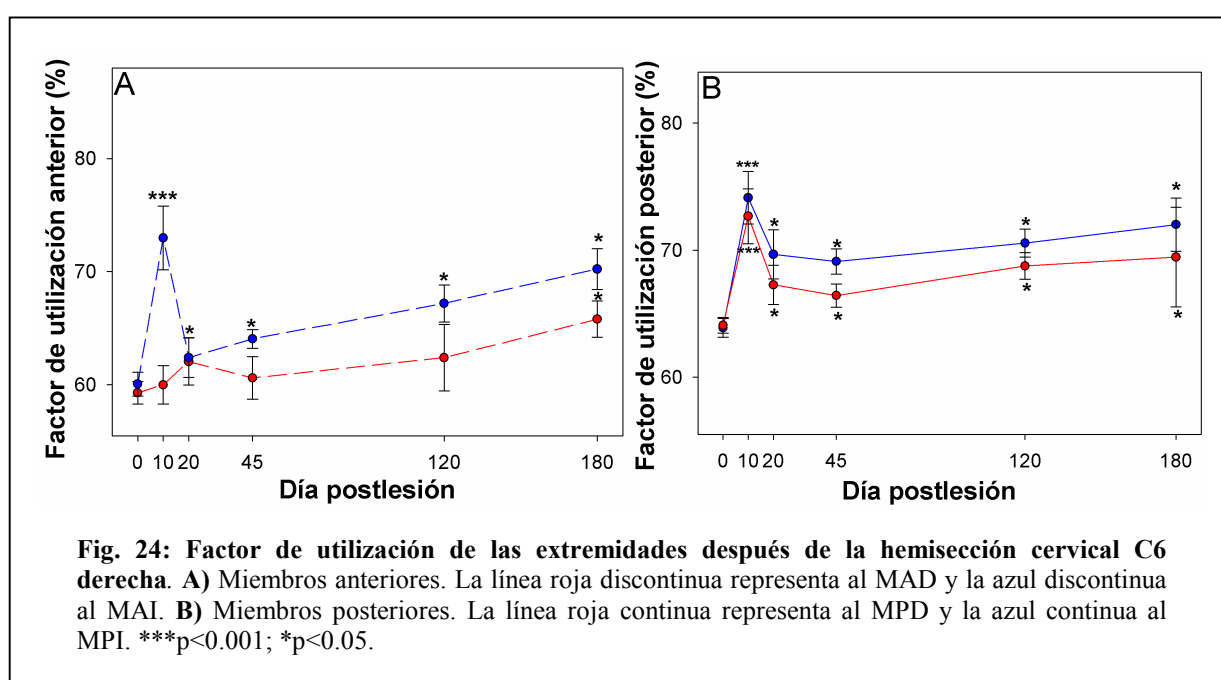
*MAI*: se prolonga la fase de apoyo y se acorta la fase aérea después de la hemisección de forma consistente y mantenida, aunque los ciclos sólo se alargan significativamente a los 10 y los 180 DPL (ANOVA  $p<0.01$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

*MPD*: la duración del apoyo también se prolonga en todos los tiempos explorados después de la hemisección (ANOVA  $p<0.001$ ). Las fases aéreas se alargan a los 10 DPL (posttest de HS  $p<0.05$ ), para posteriormente mostrar una tendencia no significativa a acortarse. A los 10 DPL, la duración del ciclo se alarga a expensas tanto de la fase de apoyo como de la aérea; a los 180 DPL, se prolonga el ciclo sólo por la prolongación del apoyo (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

En síntesis (Fig. 23), en el miembro posterior ipsilateral a la lesión (MPD) y los dos miembros contralaterales (MAI y MPI) se alargan las fases de apoyo y se acortan ocasionalmente las aéreas. Por el contrario, en el MAD la fase de apoyo solo se alarga a los 180 DPL y la aérea a los 10 DPL.



El porcentaje de apoyo con respecto a la duración del ciclo –que denominaremos *factor de utilización* a partir del inglés “*duty factor*”- es uno de los principales parámetros que definen el estilo locomotor y resultará imprescindible para la interpretación de la dinámica que se expondrá posteriormente. En condiciones de normalidad el factor de utilización de los miembros posteriores es levemente superior (~ 4 %) al de los anteriores (t-test,  $p < 0.001$ ), pero no hay diferencias entre los dos lados del cuerpo. Como se muestra en la Fig. 24, inmediatamente tras la lesión el factor de utilización del MAI, MPI y MPD se incrementó mucho respecto a sus valores control (ANOVA  $p < 0.001$ ), y siempre se mantuvo elevado. Sin embargo, fue sorprendente la falta de respuesta inicial del MAD, aunque a partir de los 20 días mostró cierta tendencia ascendente que sólo resultó significativa a los 180 DPL con respecto al control y a los tiempos intermedios de evaluación (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Para el MAI y el MPI, el aumento de este parámetro también resultó significativo a los 10 y a los 180 DPL comparado con los 20, 45 y 120 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Al contrario de lo que podría esperarse, no se hallaron diferencias significativas entre las dos extremidades posteriores. El MPD se comportó de idéntica manera que las extremidades izquierdas excepto a los 180 días, momento en el que sus porcentajes de apoyo presentaron gran variabilidad y no alcanzaron significación estadística frente a los 20, 45 y 120 días, aunque sí respecto al control normal y los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ).



### Velocidades

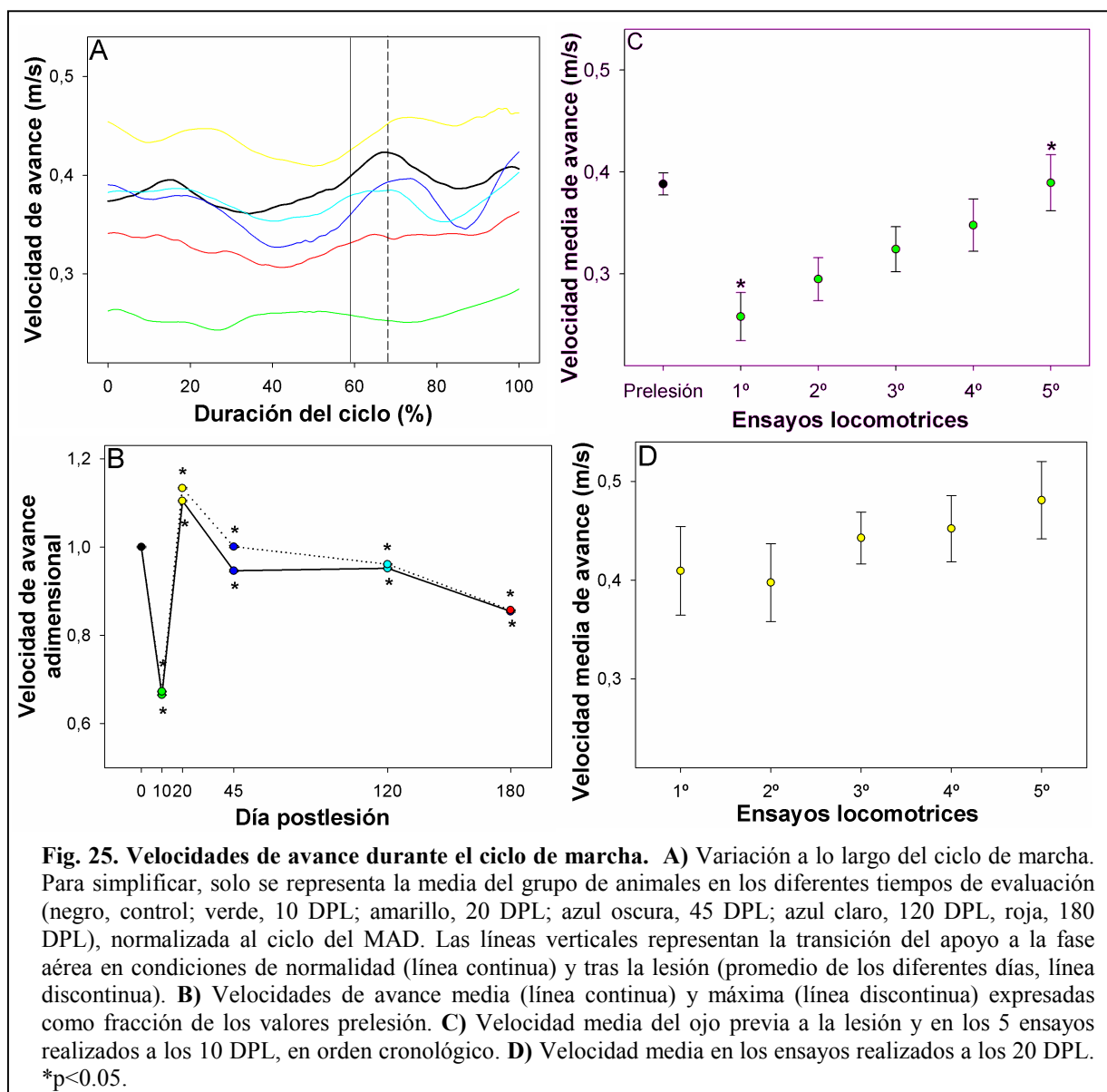
Asumimos que la velocidad del ojo representa la del centro de masas del animal tanto en el sentido de avance como en el vertical. Las fuerzas ejercidas por las cuatro extremidades se transfieren en conjunto al centro de masas, acelerándolo positiva o negativamente en los tres ejes cartesianos. Las ratas caminan sobre una superficie lisa y sin obstáculos a una velocidad estereotipada que en cada ciclo muestra dos picos generados por los pares diagonales. Puesto que se trata de una tarea de bajos requerimientos pero sin velocidad prefijada, consideramos que el análisis de la velocidad media y máxima representaría mejor los cambios después de la hemisección medular y también posibilitaría un mejor análisis del sustrato neuromuscular subyacente.

#### *Velocidad global del animal*

Las curvas de velocidad descritas por los animales controles y lesionados, así como las diferencias entre ellos se presentan en la Fig. 25 A y B. Previamente a la hemisección, la *velocidad media de avance* de los animales era de  $0.389 \pm 0.017$  m/s. 10 DPL se detectó una pérdida del 33 % en la velocidad, que se recuperó completamente a los 20 DPL. Sin embargo, a los 45, 120 y 180 DPL la velocidad media descendió de nuevo un 7 %, 10 % y 25 % respecto del valor control (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Las curvas de los 10 y 180 DPL, además de ser las más lentas, no mostraban los dos picos arriba descritos.

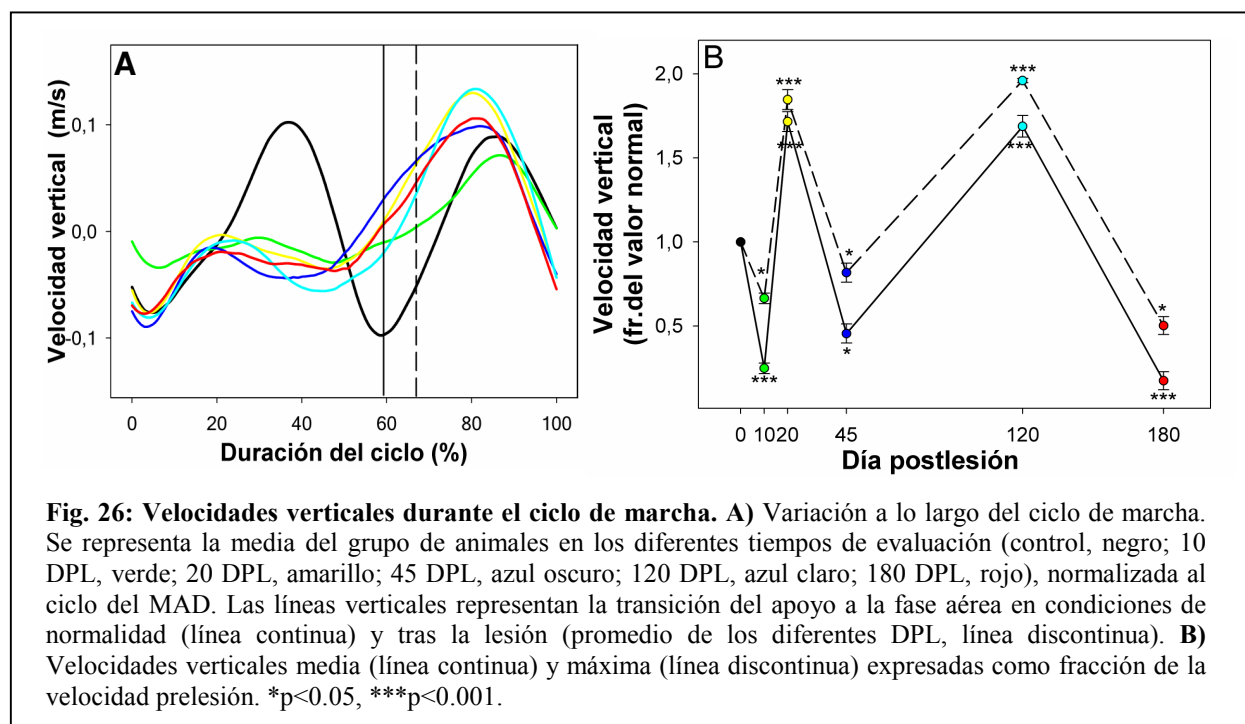
Las variaciones en las duraciones de los apoyos junto con la recuperación completa de la velocidad de avance entre el día 10 y el 20 DPL indican que los animales desarrollan rápidamente mecanismos compensatorios que se traducen en una locomoción funcional. Para conocer la precocidad con la que aparecen estas compensaciones, analizamos por separado la velocidad media de avance en cada uno de los ensayos locomotrices de los 10 y 20 DPL. Verificamos una pérdida mayor del 40 % en el primer ensayo de los 10 DPL respecto al valor normal (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Sorprendentemente, la velocidad se recuperó progresivamente el mismo día, alcanzando el valor prelesión entre el tercer y el quinto ensayo (Fig. 25 C).

Concomitantemente, se normalizaron las duraciones de las fases de apoyo de MPD, MPI y MAI, que se encontraban aumentadas en el primer ensayo pero que fueron similares al valor prelesión en el quinto. A partir de los 20 DPL la velocidad media de avance ya no mostró diferencias significativas entre los distintos ensayos del mismo día. Llama la atención la mayor dispersión que muestran las velocidades medias de los distintos ensayos después de los 10 DPL, que puede deberse a la necesidad constante de reajustes tal como señalamos previamente.



La *velocidad vertical* de la rata normal oscila en torno a cero y presenta como la de avance dos picos, pero en desfase con respecto a esta. Los animales normales mostraron una velocidad vertical media ligeramente positiva, lo que indica que ganaron cierta altura durante el paso por las

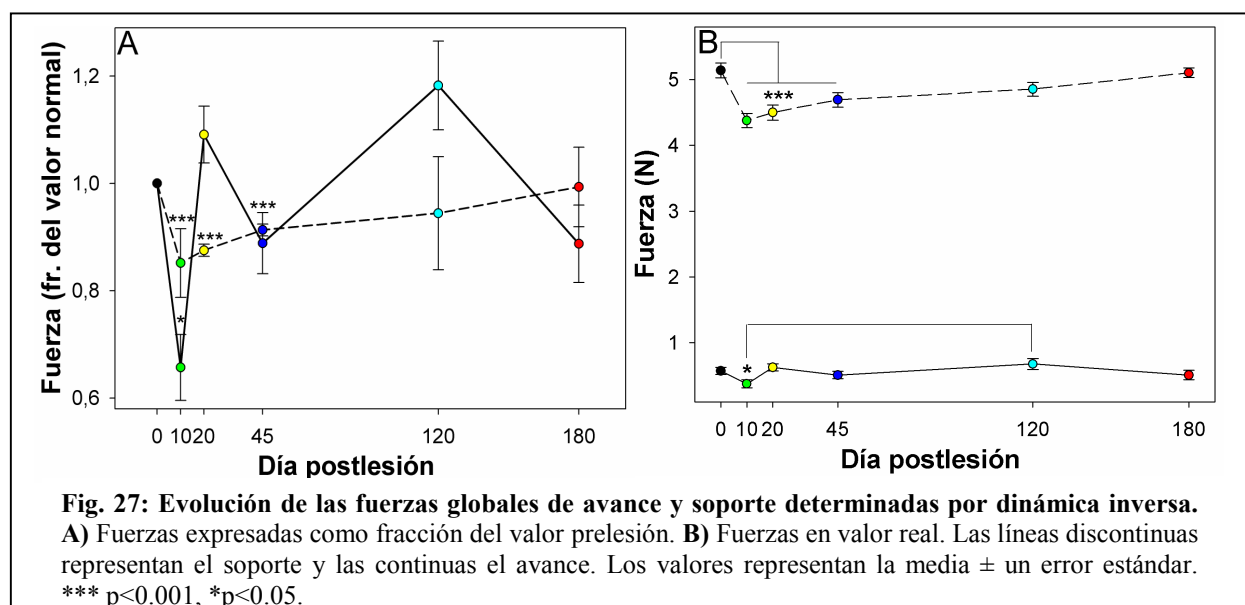
plataformas dinamométricas de nuestro sistema de registro. Tras la lesión se perdió permanentemente el pico positivo de velocidad vertical durante el apoyo del MAD, que se compensaba en el momento en que actuaba el otro par diagonal, es decir, en el segundo pico durante la fase aérea (Fig. 26A). La velocidad media se mantuvo en torno a cero, pero oscilando significativamente por debajo -a los 10, 45 y 180 DPL- y por encima -a los 20 y los 120 DPL- del valor prelesional (ANOVA  $p<0.01$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). El valor máximo osciló de forma similar (Fig. 26B).



El comportamiento de las velocidades de avance y verticales es similar hasta los 20 DPL, pero diverge a partir de los 45 y hasta los 180 DPL: mientras que las primeras disminuyen significativamente, las segundas disminuyen inicialmente para luego aumentar y de nuevo disminuir. Esta discrepancia podría guardar relación con dos hechos: 1) la fuerza que se requiere para acelerar positivamente el centro de masas en los planos vertical (soporte / levantamiento) y horizontal (propulsión) es diferente; y 2) la continuidad de la locomoción se dificultaría si los animales compensaran completamente la pérdida de velocidad vertical utilizando las otras extremidades al mismo tiempo que el MAD.

Si bien es cierto que la masa gravitacional y la inercial son iguales, en el sentido vertical

debe vencerse la fuerza gravitatoria (el peso del animal), que es mucho mayor que las fuerzas que se oponen al avance horizontal tales como la fricción del aire, que puede desestimarse. Utilizamos los parámetros temporales globales del ciclo de marcha para obtener una estimación de las fuerzas globales generadas por el animal para la propulsión ( $F_x$ ) y el soporte ( $F_y$ ), que se dedujeron mediante dinámica inversa a partir de las velocidades medias vertical y de avance, la masa gravitacional y el tiempo de apoyo del MAD, puesto que los valores de velocidad se habían normalizado con las duraciones del ciclo de dicha extremidad. Las fuerzas así obtenidas en cada tiempo postlesión se expresaron como fracción de las prelesión además de en valores reales para obtener una aproximación a la pérdida efectiva de fuerza (Fig. 27). Sólo a los 10 DPL se encontró un descenso significativo del 35 % en la fuerza de propulsión, que se recuperó completamente a los 20 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de Holm-Sidak  $p < 0.05$ ). La fuerza neta de soporte descendió significativamente a los 10, 20 y 45 DPL un 15, 12 y 10 % respectivamente, normalizándose a partir de los 120 DPL (ANOVA  $p < 0.01$ ; posttest de Holm-Sidak  $p < 0.05$ ). Aunque la fracción de fuerza perdida inicialmente fue mayor para el avance que para el soporte, en cantidades reales se detectó una disminución mucho mayor para el soporte en todos los días evaluados (Fig. 27B). La dinámica inversa corrobora los datos obtenidos mediante medición directa de las fuerzas de cada extremidad (sección 5.1.5.1), que identificaron un déficit primario de fuerza de soporte con el MAD e incrementos posteriormente en las fuerzas máximas de otras extremidades para compensar la pérdida.



### *Velocidad de las extremidades durante la fase aérea*

La acción secuencial de los músculos flexores durante los tercios inicial y medio de la fase aérea, y de los extensores en el tercio final, transporta la porción distal de la extremidad al nuevo sitio de apoyo para recibir el cuerpo acelerado. Tal acción puede verificarse midiendo la velocidad de la porción distal de la extremidad y sustrayéndole la velocidad del cuerpo. Obtuvimos así las *velocidades relativas de MAD y MPD* durante la fase aérea (Fig. 28), restando a las velocidades instantáneas de muñeca y tobillo las de hombro y cadera, respectivamente. La comparación entre ambas reviste el mayor interés teniendo en cuenta el deterioro crónico de la fuerza hallado en el MAD, pero no en el MPD, a pesar de ser también ipsilateral a la hemisección.

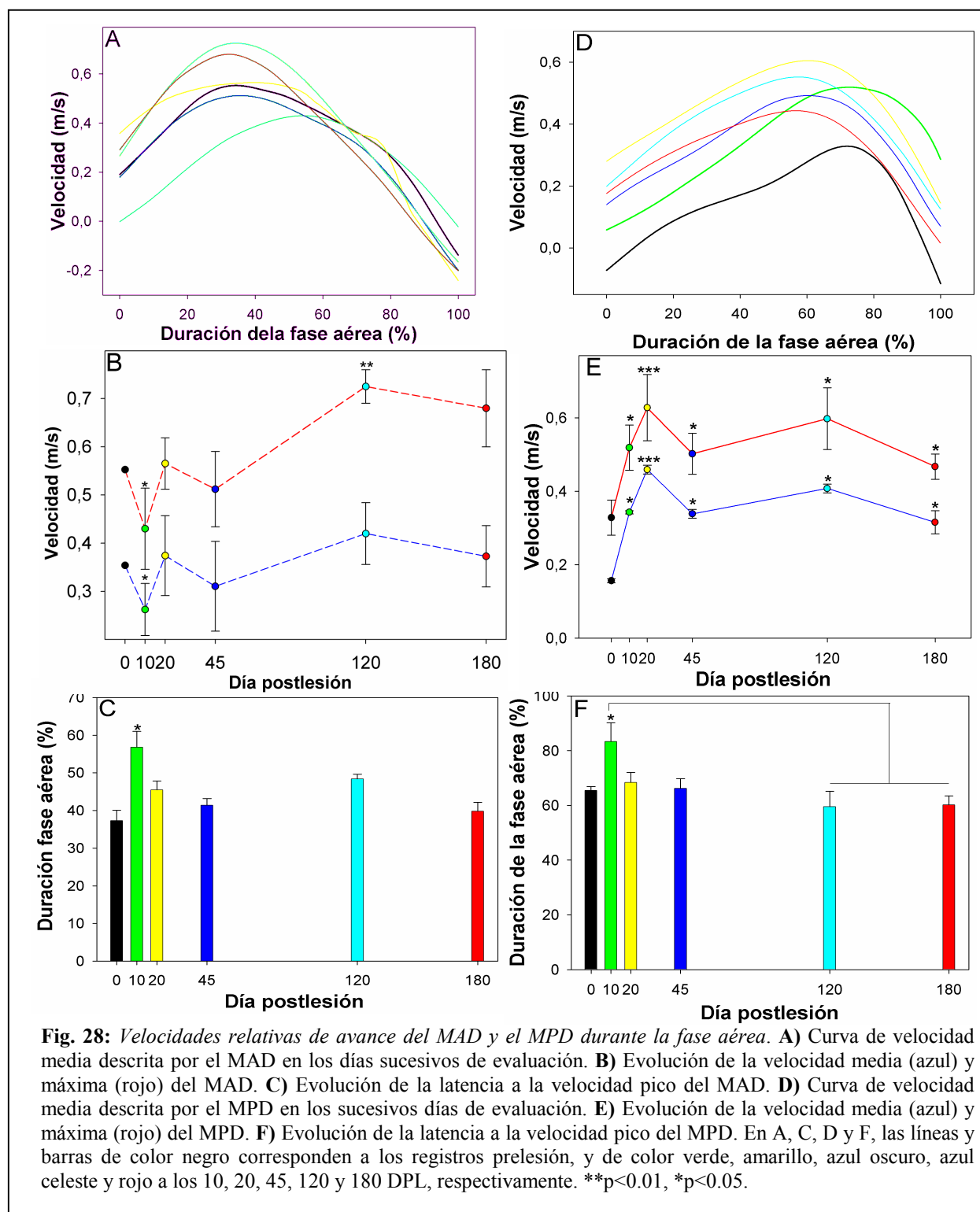
Las *velocidades media y máxima* del MAD descendieron significativamente a los 10 DPL. Posteriormente se normalizó la media, pero la máxima ascendió entre los 120 y los 180 DPL, aunque sólo alcanzó significación estadística en el primer caso (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) (Fig. 28A y B). Este comportamiento implica sobreuso en estadios crónicos del aparato flexor del MAD, responsable del pico máximo de la curva y respetado por la hemisección. La *latencia a la velocidad pico* del MAD (Fig. 28C) sólo se alargó significativamente a los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ).

Las curvas de velocidad del MPD no cambiaron sustancialmente su morfología tras la lesión (Fig. 28D) pero tanto la *velocidad media* como la *máxima* se incrementaron a casi el doble de su valor prelesión (Fig. 28E). Además, a los 20 y los 120 DPL el aumento fue incluso mayor que a los 10, 45 y 180 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). La latencia a la velocidad pico mostró una tendencia a incrementarse inicialmente y a disminuir en momentos crónicos, que sólo alcanzó significación estadística a los 10 DPL frente a los 120 y 180 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) (Fig. 28F).

#### 5.1.6.2 Parámetros geométricos

##### Alturas del ojo, hombro y cadera

La altura del cuerpo fluctúa en función de las fuerzas aplicadas y junto con ellas permite



definir el estilo locomotor. Asumimos que el ojo representa el centro de masas y, junto con su altura, analizamos también las de hombro y cadera, que son el sitio de transferencia de las fuerzas de las extremidades al resto del animal. Además de analizar los valores reales, expresamos las alturas en términos *adimensionales*, dividiendo el valor instantáneo a lo largo del ciclo entre el

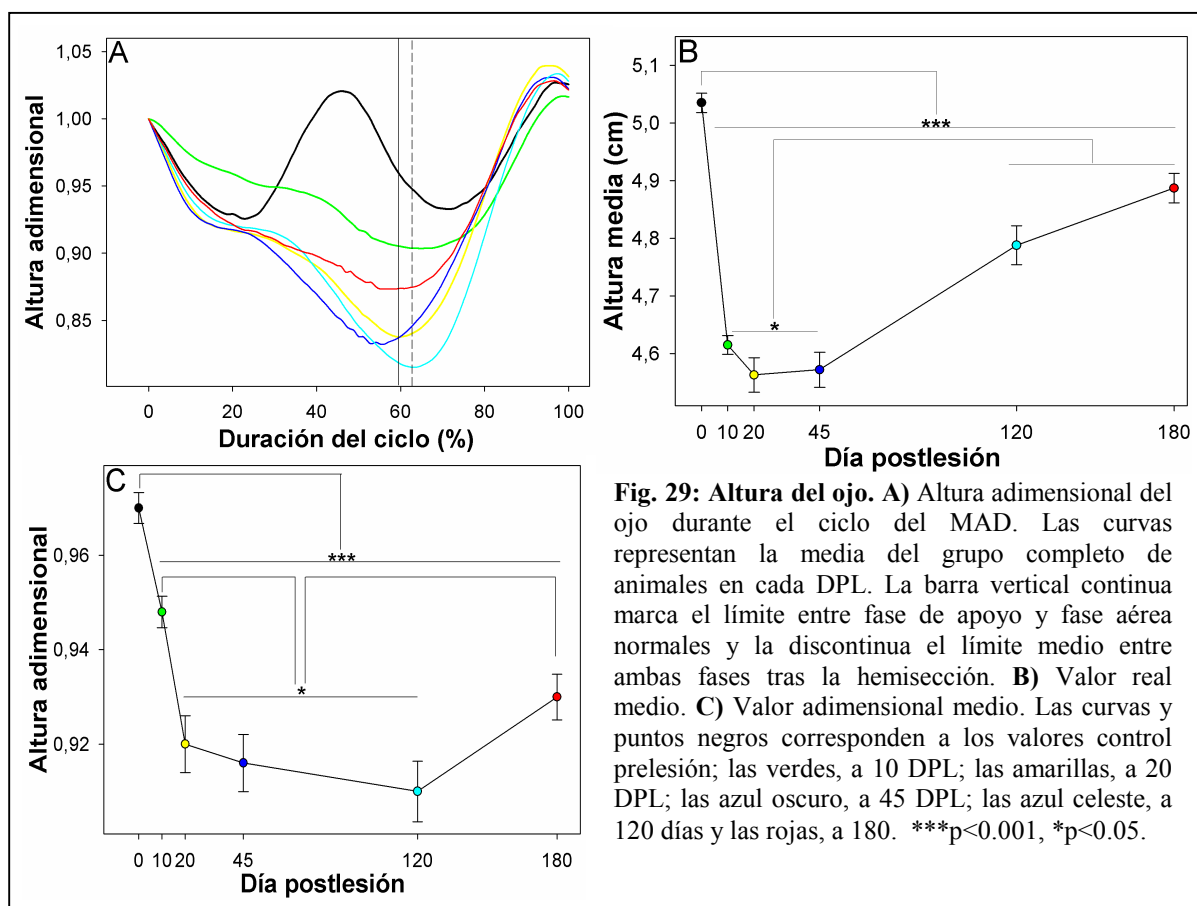


valor inicial, de modo que los valores inferiores a uno muestran descenso de altura y los superiores ascenso.

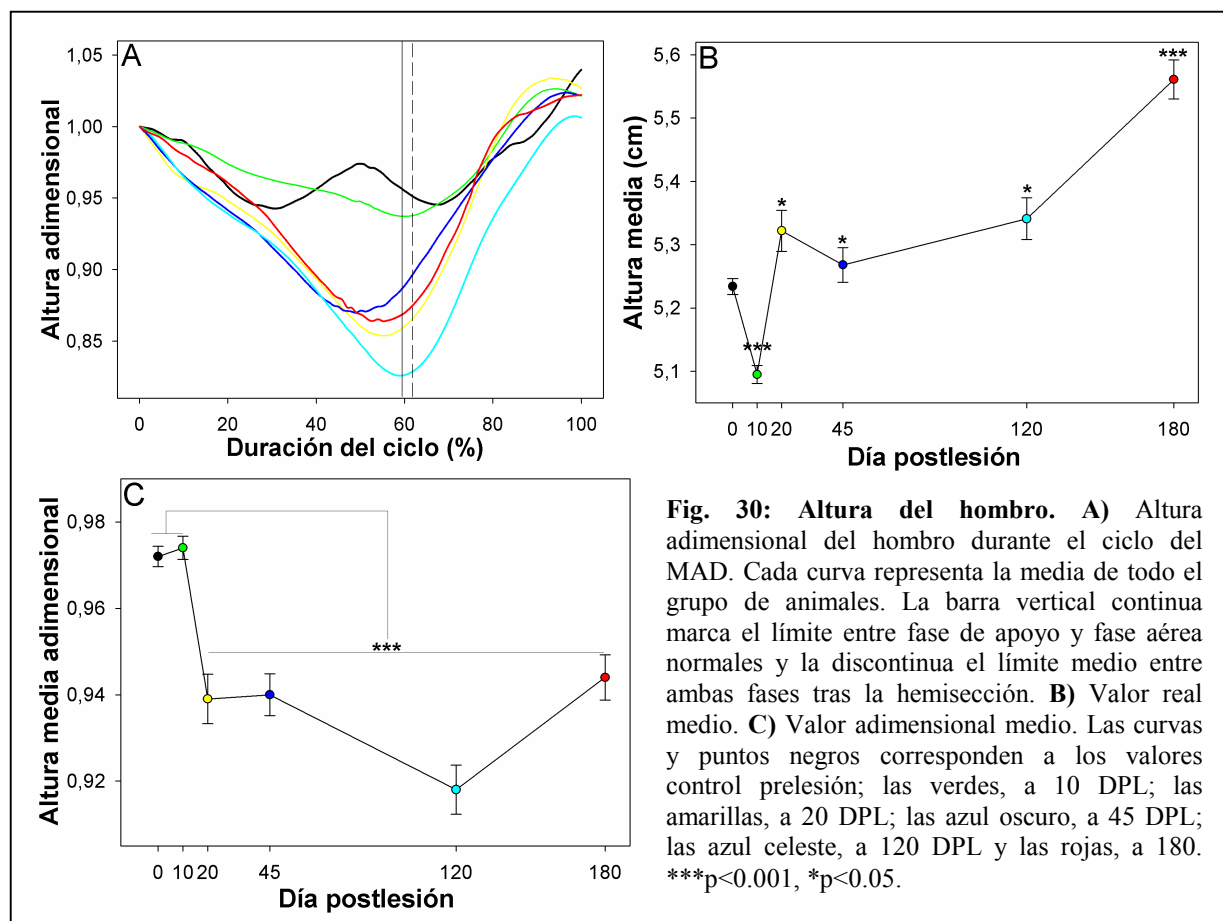
*Altura del ojo:* La Fig. 29A muestra la curva adimensional de altura del ojo durante el ciclo del MAD. En condiciones normales, la altura disminuye hasta llegar un mínimo de aproximadamente 0.92 durante la primera mitad del apoyo, ascendiendo después hasta un primer pico de 1.02 y volviendo a bajar justo antes del inicio de la fase aérea. Durante la fase aérea del MAD la carga corporal normalmente se transfiere al par diagonal contrario (MAI/MPD), razón por la cual observamos que se completa el descenso del ojo (0.92) y posteriormente asciende de nuevo hasta un segundo pico (1.02). Tras la hemisección, desaparece el ascenso y el máximo observado en la segunda mitad del apoyo del MAD, siendo sustituido por una caída progresiva hasta mínimos entre 0.91 en los primeros DPL y 0.82 al final del seguimiento. Teniendo en cuenta que en los miembros anteriores la fuerza máxima se genera durante la segunda mitad del apoyo (Fig. 18), es razonable pensar que la pérdida de altura tras la lesión se debe a la claudicación del MAD durante la transferencia parcial del centro de masas desde el MPI. Muy relevante resulta el hecho de que durante la fase aérea del MAD, las otras extremidades apoyadas son capaces de recuperar la altura perdida (Fig. 29A), lo que supone un mecanismo compensatorio complejo con ajustes continuos, en donde el animal tolera diferentes grados de pérdida en su altura real y en el mínimo alcanzado durante el apoyo del MAD. La altura real media descendió significativamente después de la lesión (ANOVA  $p < 0.001$ , postest de HS  $p < 0.05$ ), siendo esta pérdida máxima entre los 10 y 45 DPL y recuperándose parcialmente a los 120 y 180 DPL (Fig. 29B). La altura adimensional media también se redujo tras la lesión (ANOVA  $p < 0.001$ , postest de HS  $p < 0.05$ ) persistente y progresivamente hasta alcanzar su mínimo a los 120 DPL (Fig. 29C) y mostrando leve recuperación a los 180 días.

*Altura del hombro:* En condiciones de normalidad, la altura del hombro sigue un patrón parecido a la del ojo: desciende hasta un valor mínimo (0.94) en la primera mitad del apoyo del MAD, ascendiendo después hasta un primer pico de 0.97 y volviendo a bajar justo antes del inicio de la fase aérea. Una vez que se ha transferido el cuerpo al par diagonal contrario se completa el segundo descenso del hombro (0.94) y posteriormente se inicia el ascenso hasta el segundo pico

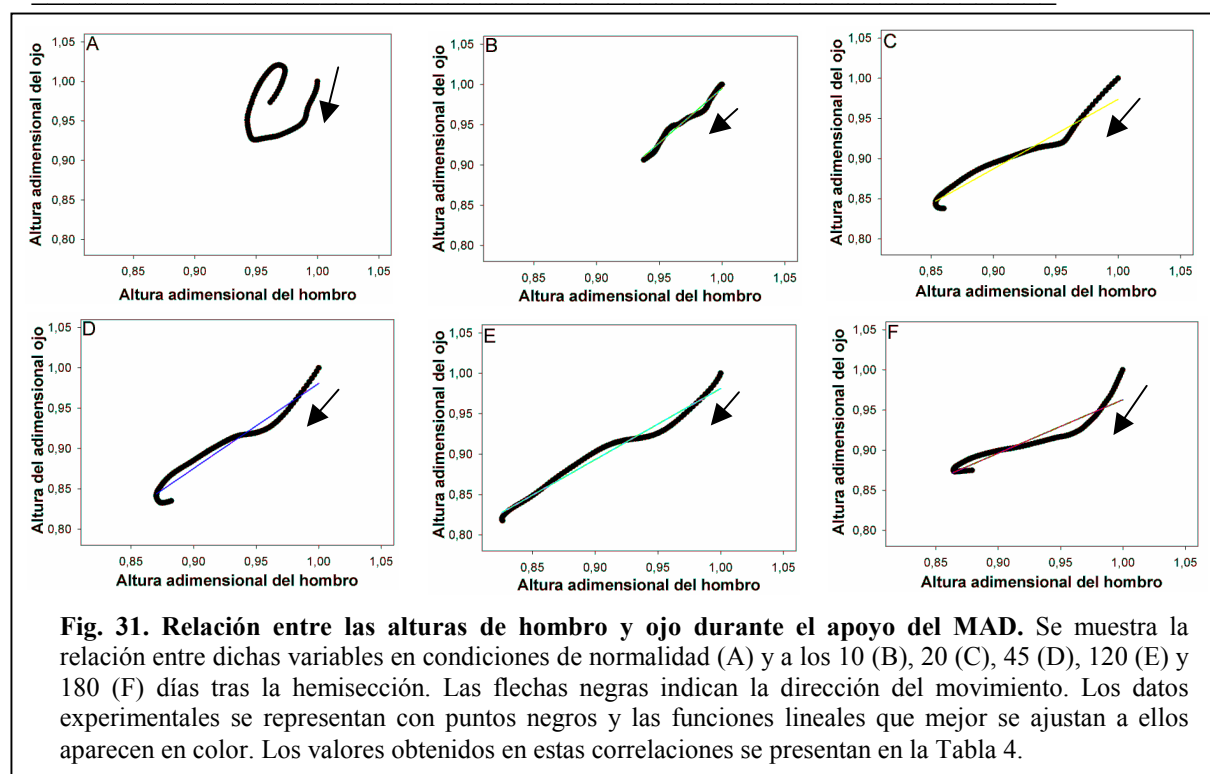
(1.03) al final del ciclo. Tras la hemisección y de idéntica manera que en el ojo, desaparece el ascenso normal en la segunda mitad del apoyo del MAD, y por el contrario se presenta una caída progresiva hasta mínimos que varían entre 0.95 y 0.82 según el día de evaluación, confirmando que tras la hemisección C6 derecha el MAD claudica cuando recibe la masa corporal acelerada.



También en correspondencia con la altura del ojo, las otras extremidades apoyadas durante la fase aérea del MAD son capaces de recuperar la altura del hombro perdida (Fig. 30A). La altura real media del hombro (Fig. 30B) descendió a los 10 DPL y ascendió 1 a 3 mm por encima del valor prelesión a partir de los 20 DPL hasta el final del seguimiento (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Sin embargo, tras la lesión (Fig. 30C) la altura media adimensional no se modificó a los 10 DPL con respecto al control, pero descendió significativamente en torno al 5 % a los 20 y 45 DPL y cerca del 8 % a los 120 DPL, para recuperarse a los 180 DPL hasta valores similares a los 20 DPL. El descenso de los 120 DPL fue estadísticamente significativo también con respecto a los otros registros postlesión (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ).



La inspección visual de las curvas adimensionales de la altura de ojo y hombro (Figs. 29A y 30A) mostró una aparente relación entre ellas, que podría reflejar la contribución directa de la fuerza extensora del brazo al soporte global del animal. Teniendo en cuenta la importancia de este hecho para entender como afectan los trastornos focales del brazo la dinámica global de la marcha, decidimos los cambios de la altura del ojo en función de la del hombro durante el apoyo del MAD. La Fig. 31 muestra las curvas que relacionan estas dos variables en cada tiempo explorado y la Tabla 4 detalla los parámetros de una aproximación a su correlación mediante regresión lineal. Resulta muy notoria la interdependencia lineal que se establece después de la lesión entre las alturas de hombro y ojo para la mayor parte del apoyo, con coeficientes de regresión superiores a 0.9 y pendientes entre 0.66 y 1.056. Esta linealidad se debe a la ausencia de elevación del cuerpo en la segunda mitad del apoyo, mostrando por el contrario una caída continuada por debajo de 0.95.

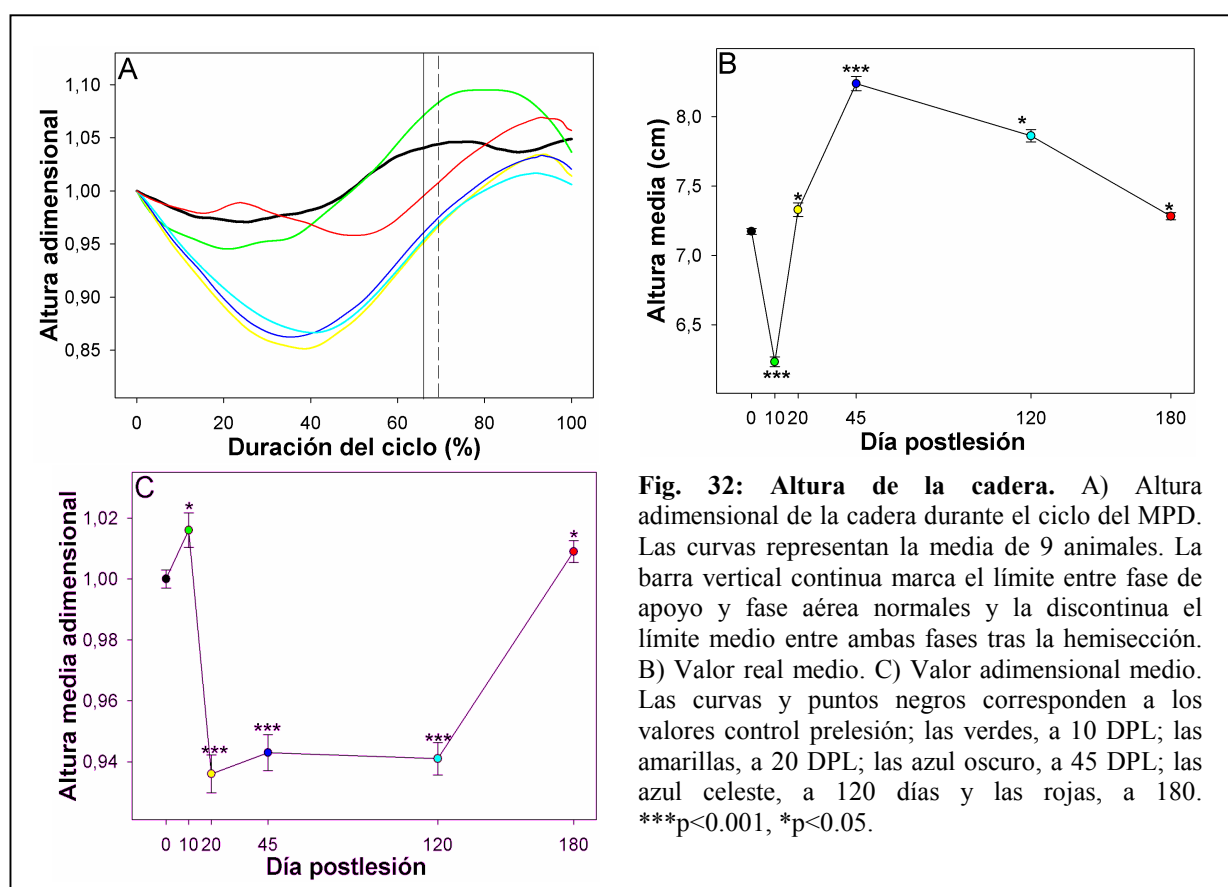


**Tabla 4.** Parámetros de la correlación lineal entre las alturas de hombro y ojo en los diferentes días de evaluación.

Día de evaluación		Coficiente	SE	t	p
Prelesión		R = 0,228	0,032		
	$y_0$	0,563	0,175	3,219	0,0017
	a	0,421	0,181	2,327	0,022
10 DPL		R = 0,980	0,01		
	$y_0$	0,106	0,021	5,136	<0,0001
	a	0,806	0,022	38,589	<0,0001
20 DPL		R = 0,986	0,01		
	$y_0$	0,106	0,021	5,136	<0,0001
	a	0,806	0,022	38,589	<0,0001
45 DPL		R = 0,975	0,01		
	$y_0$	-0,075	0,022	-3,376	<0,0001
	a	1,056	0,024	43,726	<0,0001
120 DPL		R = 0,987	0,007		
	$y_0$	0,101	0,013	7,770	<0,0001
	a	0,881	0,014	62,001	<0,0001
180 DPL		R = 0,940	0,011		
	$y_0$	0,295	0,023	13,097	<0,0001
	a	0,668	0,024	27,511	<0,0001

*Altura de la cadera:* La Fig. 32A muestra la altura adimensional de la cadera referida al ciclo del MPD. Normalmente, esta desciende levemente en la primera mitad del apoyo hasta un mínimo de 0.97 y después asciende progresivamente hasta 1.03 al inicio de la fase aérea, alcanzándose el máximo poco después. Tras la lesión las curvas fueron similares, recuperándose la

altura en la segunda mitad del apoyo e indicando que los mecanismos extensores de la extremidad posterior funcionan suficientemente bien. Sin embargo, la oscilación de la altura fue mucho mayor postlesión, siendo el rango prelesión de 0.499 cm y el postlesión entre 0.810 y 1.495 cm. Hemos visto que la fuerza máxima de soporte no se redujo significativamente (Fig. 30), por lo cual la mayor oscilación de altura no se debió a pérdida de fuerza en el MPD. Además, la altura media real de la cadera descendió un 14 % a los 10 DPL tras la lesión pero se recuperó a los 20 DPL e incluso se elevó un 14 % por encima del valor prelesión a los 45 y 120 DPL, volviendo al valor de partida a los 180 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Fig. 32B].



La altura adimensional media también aumentó levemente a los 10 y a los 180 DPL, aunque disminuyó en torno a un 6 % del valor control a los 20, 45 y 120 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Fig. 32C], lo que indica que en esos momentos se ha establecido un mecanismo compensatorio en donde la cadera se levanta más antes del apoyo y luego cae más durante el mismo, mecanismo que estaría facilitado por la anticipación de los apoyos de los

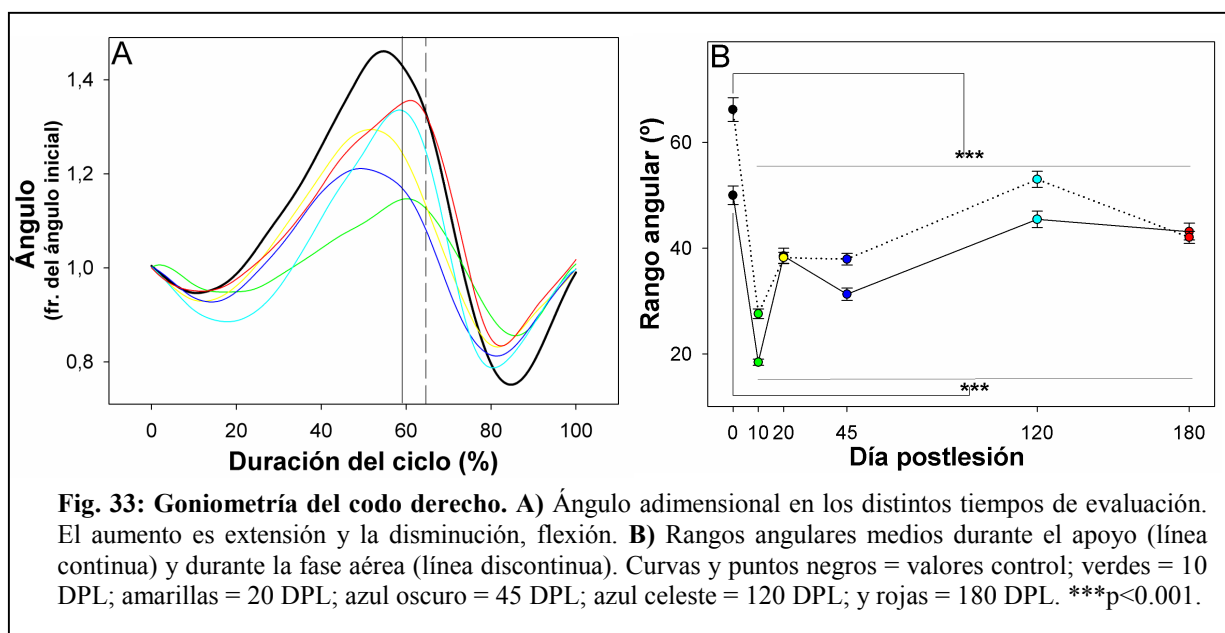
miembros posteriores. Las diferencias geométricas entre hombro y cadera mostraron nuevamente que la hemisección cervical supone menor repercusión funcional en el MPD que en el MAD.

### Goniometrías

Analizaremos a continuación los cambios en las goniometrías de las extremidades, llamando flexión a la disminución de los ángulos y extensión al incremento de los mismos, independientemente del rango articular en el que sucede el movimiento. El codo y la rodilla de la rata tienen la piel muy poco adherida a la articulación, aumentando la posibilidad de errores de partida en la colocación de los marcadores que las representan. Por ello decidimos expresar sus ángulos como fracción adimensional del valor al inicio del apoyo de la extremidad correspondiente y estudiar los cambios relativos además de los rangos reales, diferenciando entre fase de apoyo y aérea. También se compararon las latencias a los picos máximos.

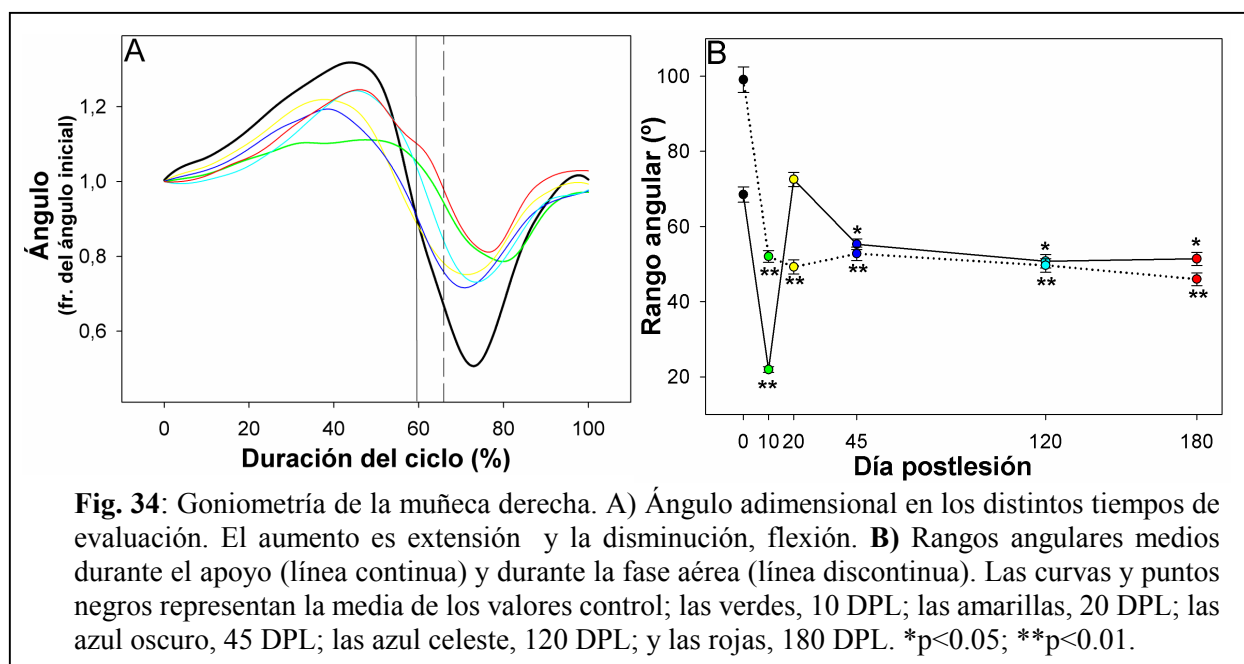
La Fig. 33A muestra el *ángulo adimensional del codo del MAD*. En condiciones de normalidad existe una pequeña flexión en el primer tercio del apoyo, pero después se extiende progresivamente hasta alcanzar su máximo poco antes del inicio de la fase aérea, momento en que empieza de nuevo la flexión. En la fase aérea, la flexión continúa hasta alcanzar el ángulo mínimo en el tercio final de la misma, y después empieza de nuevo la extensión para recolocar la extremidad en el suelo. A los 10 DPL el rango angular del codo disminuyó drásticamente al 35 % del valor normal durante el apoyo y al 40 % durante la fase aérea (Fig. 33B), lo que denota pérdida de extensión en la fase de apoyo y de flexión en la fase aérea, aunque parte de esta última es secundaria a la propia pérdida de extensión y no refleja por sí misma alteración funcional de los flexores. El rango de extensión se recuperó hasta el 84 % de lo normal a los 120 DPL, siendo la diferencia todavía estadísticamente significativa, así como la disminución del rango articular en la fase aérea (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Las latencias a los picos máximos no cambiaron significativamente. La pérdida de extensión del codo se corresponde con la pérdida de altura adimensional del hombro (Fig. 30A) cuando se comparan ambos gráficos. Sin embargo no lo hicimos porque se requeriría calcular la orientación tridimensional exacta de la extremidad para

poder correlacionar con precisión estas variables.



*Ángulo de la muñeca del MAD:* Consideramos extensión de la muñeca el acercamiento del dorso de la garra al antebrazo y flexión el movimiento contrario. Normalmente la muñeca se extiende progresivamente desde el inicio del apoyo hasta un máximo en el tercio final de éste, y luego empieza a flexionarse para alcanzar el pico flexor en la primera mitad de la fase aérea. Finalmente se extiende de nuevo reposicionándose para el siguiente apoyo (Fig. 34A). Tras la lesión, el comportamiento inicial de la muñeca fue parecido al del codo: a los 10 DPL apenas se extendía en el apoyo y disminuía también la flexión en la fase aérea. Sin embargo, posteriormente su comportamiento fue sensiblemente diferente, la muñeca recuperó la mayoría de extensión pero no de flexión. Esto se reflejó en los rangos articulares: el de extensión durante el apoyo cayó un 60 % con respecto del valor control a los 10 DPL, se recuperó completamente a los 20 DPL y posteriormente volvió a disminuir un 20 % del valor prelesión. En cambio, el rango angular durante la fase aérea se redujo al 50 % y no se recuperó en ningún momento (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) (Fig. 34B). Las latencias a los picos máximos extensor y flexor estaban levemente alargadas a los 10 DPL. En resumen, tras la lesión se produjeron pérdidas claras en el movimiento angular del codo y la muñeca derechas en ambas fases del ciclo. Las alteraciones detectadas en la muñeca podría deberse a paresia de la musculatura del carpo y los dedos, puesto que las columnas

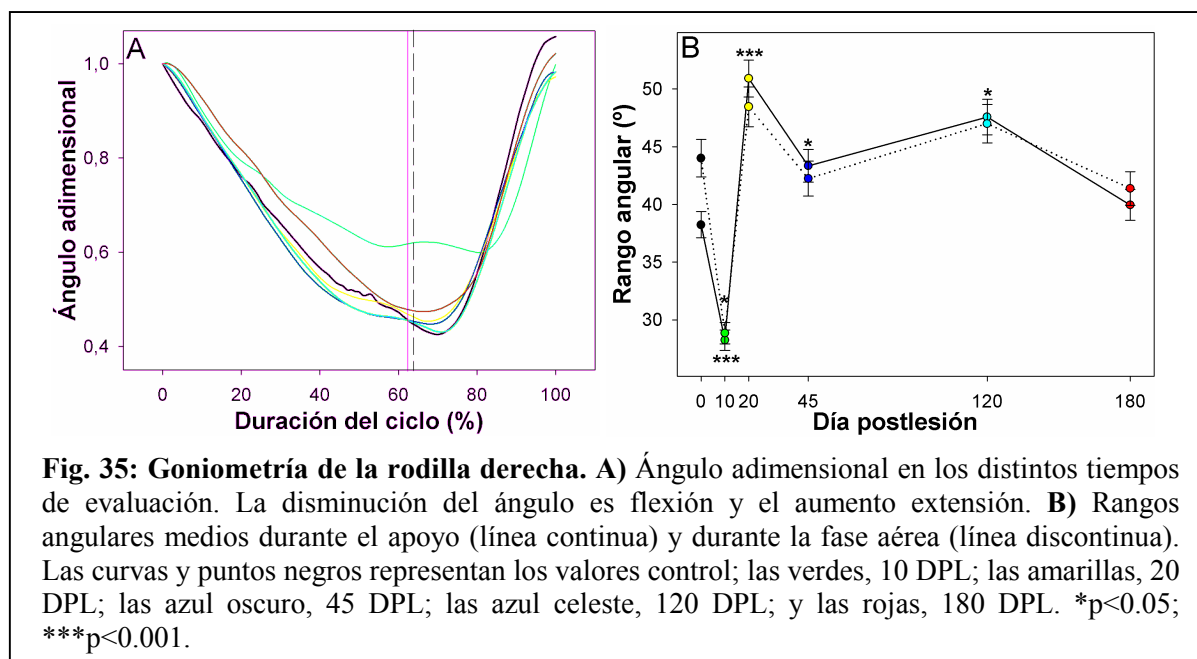
de sus MNs están ubicadas en C7 y C8 y se hallarán desinervadas igual que las del TB.



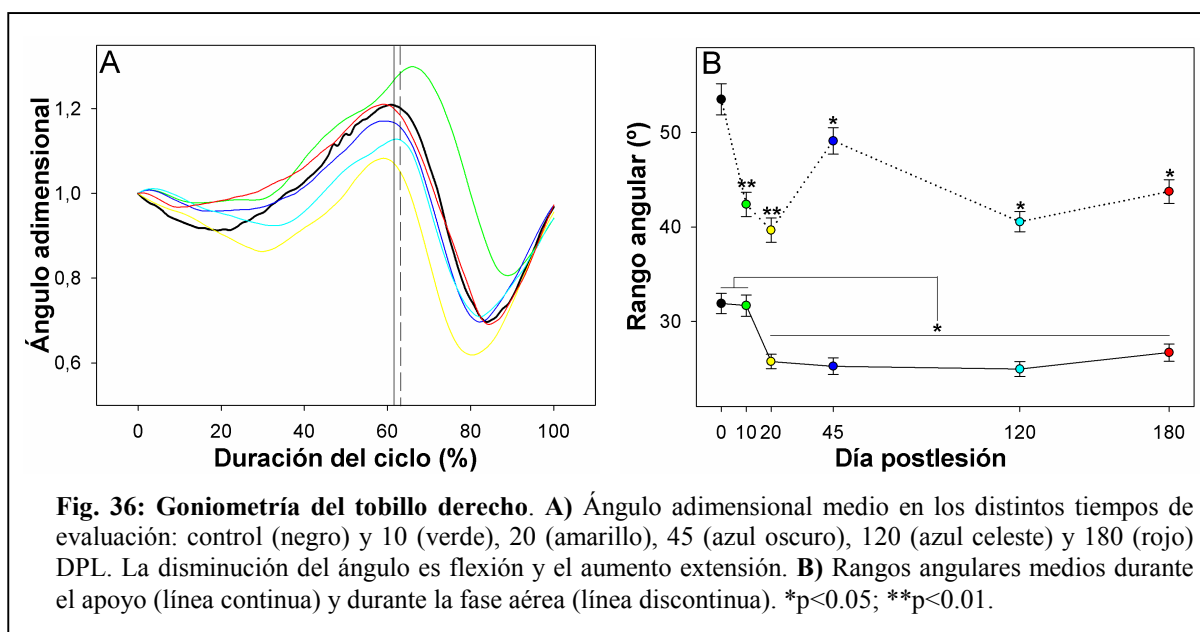
*Ángulo de la rodilla del MPD:* En condiciones normales, la rodilla inicia el apoyo en máxima extensión y se flexiona paulatinamente durante casi toda esta fase, realizando sólo una leve extensión al final de la misma. En el primer tercio de la fase aérea se completa la máxima flexión y posteriormente se extiende de nuevo hasta retornar al valor inicial con que se apoya. A los 10 DPL tras la hemisección la rodilla se flexionaba mucho menos, tanto durante el apoyo como en la fase aérea, y el pico de flexión máxima estaba desplazado hasta el tercio medio de la fase aérea (Fig. 35A). Recuérdese (Fig. 18) que el pico máximo de fuerza de soporte de la extremidad posterior ocurre al inicio del apoyo, cuando se está flexionando la rodilla por efecto de la carga corporal. Es decir, en esta fase la rodilla genera fuerza por contracción excéntrica de los extensores y por consiguiente, la menor flexión durante el apoyo a los 10 DPL seguramente es un fenómeno compensatorio que se acompañará de hiperactividad de sus extensores. A partir de los 20 DPL la curva descrita por la goniometría de la rodilla fue muy similar a la normal (Fig. 35A), aunque se detectaron cambios en el rango articular medio (Fig. 35B). Este se redujo una tercera parte a los 10 DPL, tanto durante la fase de apoyo como en la aérea, pero a los 20 días aumentó un 20 % por encima del control (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) y luego descendió paulatinamente hasta los 180 días a valores próximos al normal. En la fase aérea sólo fue significativa su reducción



a los 10 días con respecto al valor normal y a otros DPL.



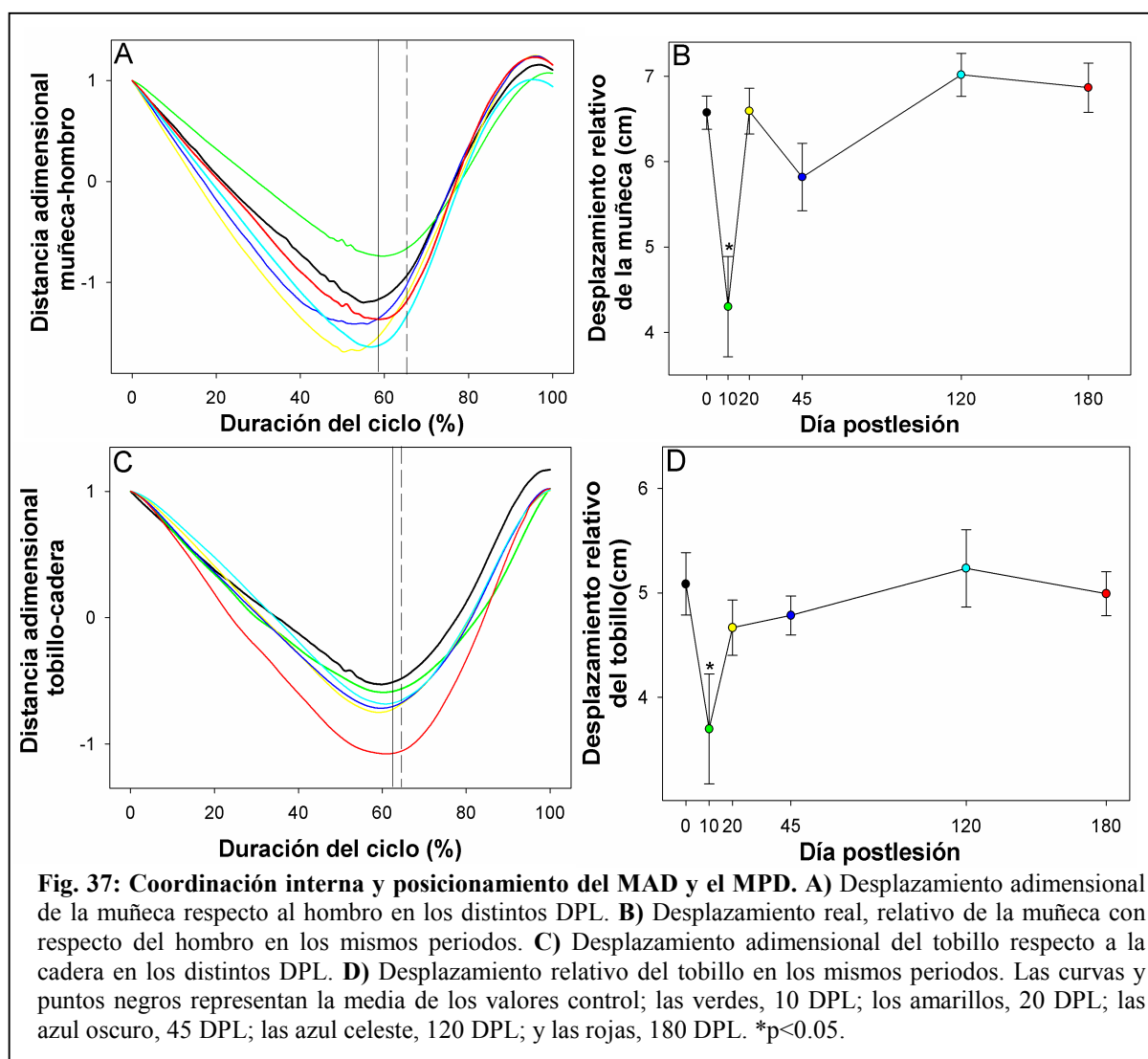
Consideramos flexión del tobillo el acercamiento del dorso de la pata a la tibia y extensión el movimiento contrario. Así, la *goniometría del tobillo* normal muestra una leve flexión al inicio de la fase de apoyo, seguida de un aumento hasta el pico máximo de extensión al final de la misma. La fase aérea comienza con flexión progresiva llegando hasta el ángulo mínimo en la mitad, con extensión posterior para volver a la posición de partida del siguiente apoyo. Como puede verse en la Fig. 36A, la mayor modificación de la curva ocurrió a los 10 DPL, aumentando el pico de extensión máxima y también retrasándolo al inicio de la fase aérea (ANOVA  $p<0.05$ , posttest HS  $p<0.05$ ). El rango articular medio durante el apoyo (extensión) no mostró alteración a los 10 DPL, pero sí una reducción significativa a los 20, 45, 120 y 180 días (ANOVA  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). Durante la fase aérea, el rango articular medio (flexión) se redujo a los 10 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ), normalizándose prácticamente a los 45 DPL y volviendo a disminuir en tiempos posteriores (Fig. 36B). En conjunto, las goniometrías de la rodilla y el tobillo del MPD no evidencian pérdida funcional tras la lesión, pero sí ajustes compensatorios que indican un aumento de la extensión de ambas articulaciones durante el apoyo a los 10 DPL. Contrariamente a lo que sucede en el MAD, no hay trastornos que impliquen pérdida permanente de función flexora en la fase aérea del MPD.



### Coordinación interna y posicionamiento de las extremidades

En trabajos previos<sup>10</sup> hemos descrito cómo al medir el avance de las articulaciones distales -muñeca y tobillo- con respecto al de las proximales -hombro y cadera- se eliminan otros componentes que contribuyen a la longitud del paso, tales como el desplazamiento global del cuerpo y la traslación de las extremidades debida a la rotación de la pelvis y la escápula. Obtenemos así la contribución real de la flexo-extensión de las articulaciones proximales -hombro, codo, cadera y rodilla- al posicionamiento de las extremidades. Al inicio del apoyo tanto tobillo como muñeca se colocan en su posición anterior extrema, normalmente 2.5 a 3 cm por delante de cadera y hombro, respectivamente. Al final del primer tercio del apoyo la muñeca y el tobillo están justo debajo del hombro y la cadera, y luego se retrasan alcanzando la posición posterior extrema (-2.5 a -3.5 cm) en el momento en que se inicia la fase aérea. La flexo-extensión de las extremidades durante la fase aérea recoloca la muñeca y el tobillo en la posición anterior extrema para iniciar el siguiente apoyo. Como puede observarse en la Fig. 37, la forma de las curvas adimensionales normales es muy similar para el MAD y el MPD, pero la muñeca alcanza una posición más posterior (relativa a su articulación de referencia) que el tobillo. Este comportamiento guarda relación con el hecho de que la extensión máxima del codo ocurre en la segunda mitad del apoyo

(Fig. 33), mientras que la rodilla sufre una flexión progresiva (Fig. 35).



En general, después de la lesión se mantuvo la forma de la curvas descritas por la muñeca y el tobillo a lo largo del ciclo en ambas extremidades, indicando la conservación de los mecanismos de coordinación intrínseca de hombro-codo y cadera-rodilla. Sin embargo, consistente con la pérdida de extensión en el codo y ganancia en la rodilla a los 10 DPL, el desplazamiento posterior de la muñeca se redujo (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ; Fig. 37A), mientras que en la rodilla hubo tendencia al incremento (Fig. 37C) pero no alcanzó validez estadística. Después de los 10 DPL se normalizó la curva del MAD y también mostró tendencia al desplazamiento posterior. Por otra parte, el rango real de desplazamiento de la muñeca y el tobillo nos proporciona la

contribución de las articulaciones proximales a la longitud del paso. Es importante tener en cuenta que en el MAD se excluyen los movimientos de la escápula y la garra anterior, y en el MPD los de la pelvis y la garra posterior. Además, para ambos se elimina el desplazamiento variable de la extremidad en cada ciclo debido a la velocidad del animal y al alargamiento y encogimiento del tronco. En este parámetro, tanto la muñeca como el tobillo mostraron una disminución estadísticamente significativa a los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest HS  $p < 0.05$ ), normalizándose después (Fig. 37 B y D).

## 5.2 Validación de los hallazgos del primer experimento y análisis de la recuperación en la fase aguda de la lesión medular.

Utilizamos una nueva serie de animales para confirmar los principales hallazgos del primer experimento y responder otros interrogantes que se generaron. En primer lugar, en la mitad de los animales del primer experimento hubo daño parcial de las columnas dorsales en el lado de la médula que se pretendía dejar sano y nos preguntamos si esto podría haber influido en la escasa recuperación funcional. Para saberlo, en el segundo experimento mejoramos la técnica de lesión utilizando unas microtijeras de punta recta que nos permitieron realizar un corte más preciso en la línea media. Por otra parte, quisimos ampliar el análisis de las fuerzas individuales de cada extremidad, incluyendo además de las fuerzas máximas de soporte y avance, las fuerzas medias y las integrales de estos componentes para calcular los impulsos. Con esto intentamos determinar si la fuerza máxima es realmente el parámetro que mejor define la capacidad funcional de la extremidad, y además conocer la contribución real de cada extremidad a la locomoción global del animal. Finalmente, para investigar la fisiopatología y estrategias terapéuticas para la LME resulta muy importante definir con precisión la duración de la fase aguda. Por consiguiente, en el segundo experimento adelantamos el inicio de las evaluaciones biomecánicas a los 5 DPL, ya que antes habíamos encontrado que la velocidad de avance y la duración de los apoyos se normalizaron a lo

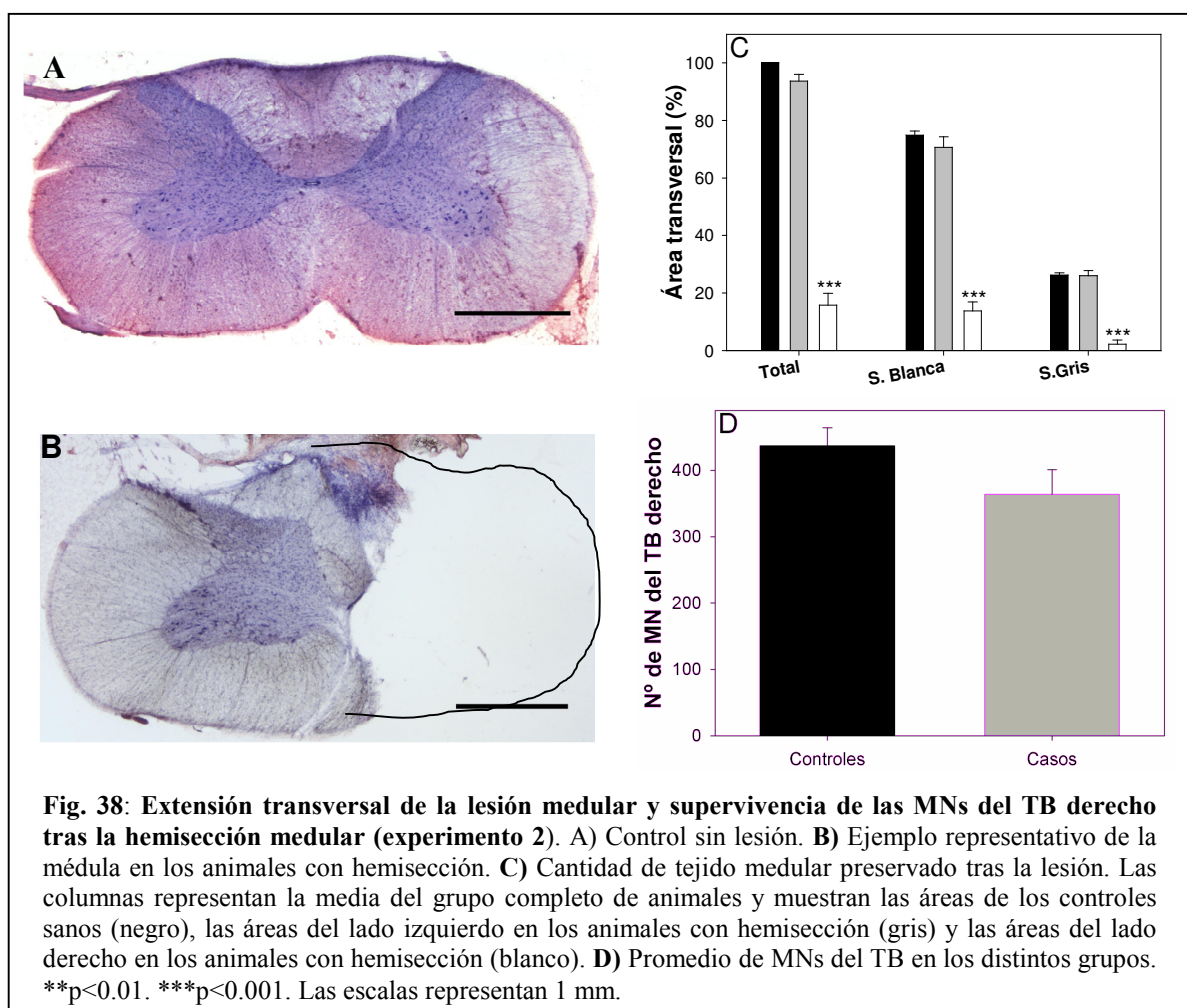
largo del día 10, planteando la posibilidad de que el plateau de recuperación pueda establecerse más precozmente si se re-habituá el animal al sistema de evaluación. En el segundo experimento los animales se siguieron solo hasta los 120 DPL, un periodo ya muy crónico y en el cual aún no tendríamos el deterioro del patrón locomotor que observamos a los 180 DPL, que probablemente se debió a la ganancia excesiva de masa corporal. Como esperábamos, muchos de los resultados fueron superponibles a los del experimento 1, por lo que sólo se expondrán los datos nuevos y aquellos que puedan ser mejor interpretados a la luz de estos.

### 5.2.1 Área de lesión y supervivencia de las neuronas del TB

La hemisección se localizó en la transición de los segmentos medulares C6/C7 derechos, y tuvo una extensión longitudinal media de  $1.2 \pm 0.3$  mm, siendo levemente superior a la del primer experimento. Sin embargo, en el plano transversal conseguimos el objetivo de evitar el daño del lado izquierdo y a la vez cortar de forma un poco más completa el lado derecho de la médula (Fig. 38B), de manera que solo en dos casos se afectaron parcialmente las columnas dorsales, en ambos casos restringiéndose el daño al fascículo grácil sin involucrar al cuneiforme ni al TCE. Consecuentemente, no se hallaron diferencias estadísticas en el área transversal total ni en el área de sustancia blanca o gris de los controles y la hemimédula izquierda de los casos. Por otra parte, también la hemisección medular del lado derecho resultó más completa, comprometiendo alrededor del 85 % del área (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Fig. 26C]. La mayor parte del área preservada en el lado derecho fue de sustancia blanca, generalmente de la porción ventromedial, y solo en un caso se preservó el TCE.

Al igual que en el primer experimento, se contaron las motoneuronas del TB esta vez, marcándolas retrógradamente por aplicación de trazadores fluorescentes en el nervio axotomizado. En este caso la media de MNs en el lado de la hemisección fue aparentemente un 16 % menor que el valor control (lesión,  $363.5 \pm 37.2$ ; control,  $417 \pm 27.2$ . Fig. 38D), pero la diferencia no alcanzó

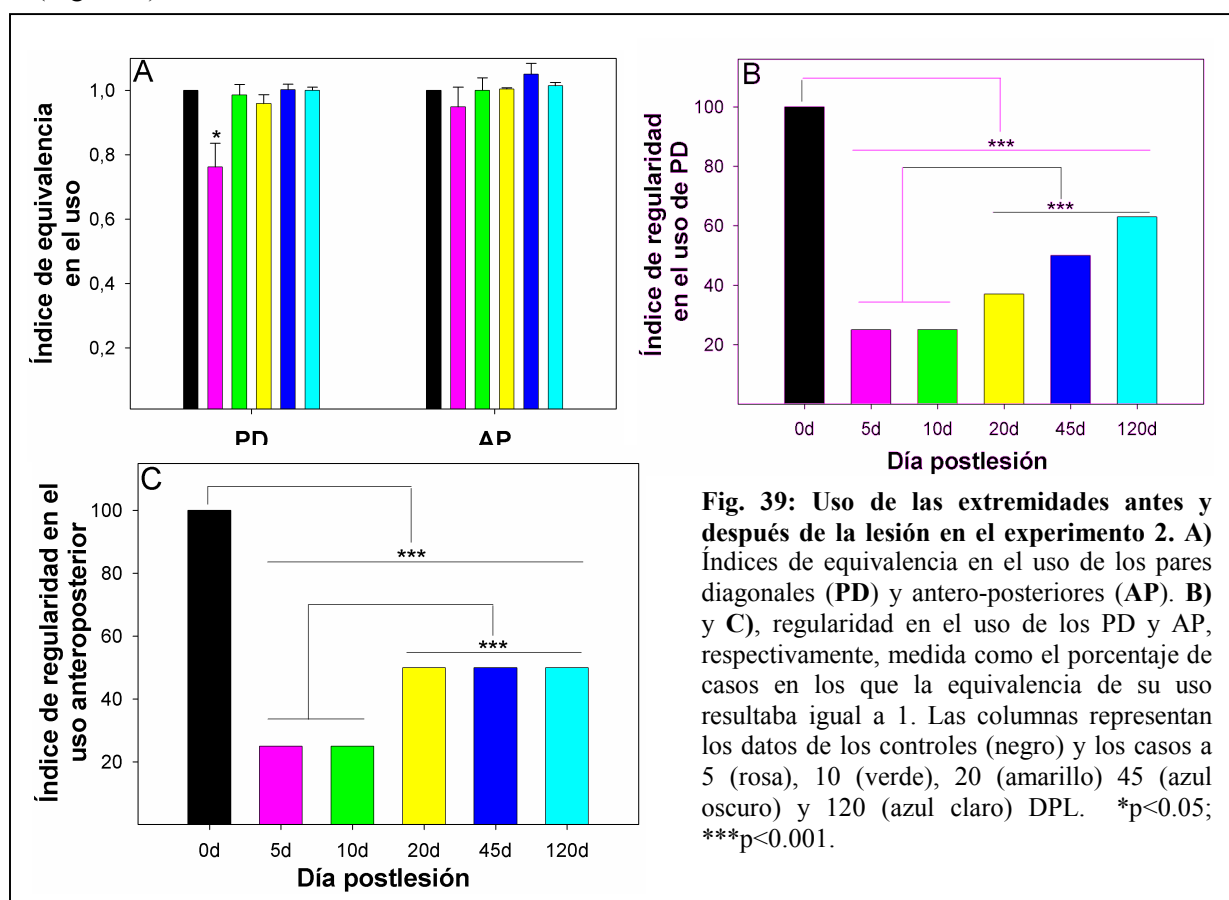
validez estadística (t-test,  $p = 0.131$ ).



### 5.2.2 Uso relativo de las extremidades

Se contabilizó el número de apoyos de cada extremidad y se calcularon los índices de equivalencia antero-posterior y entre pares diagonales, del mismo modo que se expuso en la sección 5.1.3. A los 5 DPL los animales presentaron una marcha muy inestable y dificultosa, con una reducción del 20 % en el número de apoyos del MAD en comparación con las otras extremidades (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest HS  $p < 0.05$ ). Esta disminución se acompañó de la correspondiente pérdida de equivalencia diagonal (Fig. 39A), que se normalizó a partir de los 10 DPL. Sin embargo, igual que en el primer experimento, a partir de entonces se presentó una variabilidad pequeña pero sistemática en el índice de equivalencia diagonal, existiendo siempre un porcentaje de ciclos con

uso diferente de 1. En este parámetro se encontraron diferencias significativas entre el control y todos los tiempos postlesión ( $\chi^2$ ,  $p<0.001$ ), y entre los 5 y 10 DPL y los 20, 45 y 120 DPL ( $\chi^2$ ,  $p<0.001$ ). (Fig. 39B). El índice de equivalencia antero-posterior no se afectó a los 5 DPL porque el MAI frecuentemente compensaba los apoyos omitidos del MAD. Sin embargo, al igual que en la simetría diagonal, hubo variabilidad y presencia de ciclos en los cuales el índice era diferente de 1, de modo entre todos los tiempos postlesión y el control hallamos diferencias significativas en este parámetro ( $\chi^2$ ,  $p<0.001$ ), así como entre los 5 y 10 DPL y los 20, 45 y 120 DPL ( $\chi^2$ ,  $p<0.001$ ) (Fig. 39C).



### 5.2.3 Dinámica

En el primer experimento vimos que la *fuerza máxima* es un buen parámetro para determinar la capacidad funcional perdida. En este segundo experimento, la comparamos con la *fuerza media* y la *integral de la curva de fuerza*. Merece la pena señalar que la fuerza media por sí sola tampoco nos

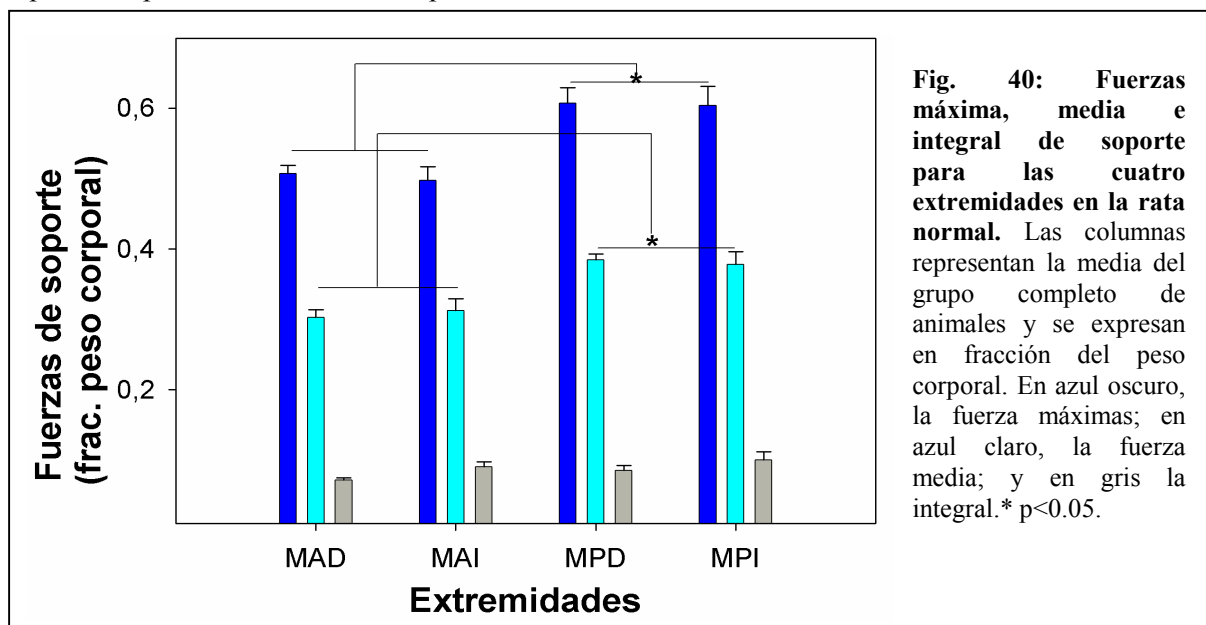
indica la contribución total de la extremidad al movimiento, sino que se requiere multiplicarla por la duración del apoyo, es decir, calcular su *integral*, que corresponde al *impulso cinético* que genera cada extremidad sobre el centro de masas.

#### 5.2.3.1 Fuerzas de soporte

Las fuerzas máximas de soporte de los animales normales fueron algo menores que en el experimento 1. La diferencia probablemente se debió a que al inicio de los estudios los animales del primer experimento tuvieron un 20 % más de masa corporal que los del segundo (t-test,  $p < 0.05$ ). La fuerza máxima de soporte ejercida por las extremidades anteriores en este segundo experimento fue el 50 % del peso corporal y la de los posteriores el 60 % (Fig. 40), siendo la diferencia estadísticamente significativa (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Las fuerzas medias de soporte representaron el 31 % del peso corporal para las anteriores y el 38 % para las posteriores (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Sin embargo, en la integral de la curva de fuerza no se detectaron diferencias entre el tren anterior y el posterior ( $p = 0.093$ ), aunque posiblemente se hallarían si se analizara un mayor número de ciclos. Todos los parámetros tuvieron valores similares en los dos lados del cuerpo. La Fig. 41 muestra la evolución de las fuerzas de soporte para cada extremidad tras la hemisección en todos los tiempos explorados de este segundo experimento. Se confirmó el deterioro grave y persistente de este parámetro para el *MAD*, cuyo valor a los 5 DPL fue solo el 48 % del normal. Posteriormente se recuperó parcialmente llegando al 74 % a los 45 DPL y al 70 % a los 120 DPL. A diferencia de lo que ocurrió en el primer experimento, en el que la leve mejoría observada entre el día 10 y 120 no alcanzó validez estadística, en el segundo si hubo diferencias significativas entre los dos registros más agudos (días 5 y 10) y los dos más crónicos (días 45 y 120) (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). El comportamiento de las fuerzas medias de soporte del *MAD* fue muy similar al de las máximas: reducción hasta el 45 % de lo normal a los 5 DPL, con recuperación hasta el 71 % al final del seguimiento (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Sin embargo, la integral de la fuerza no



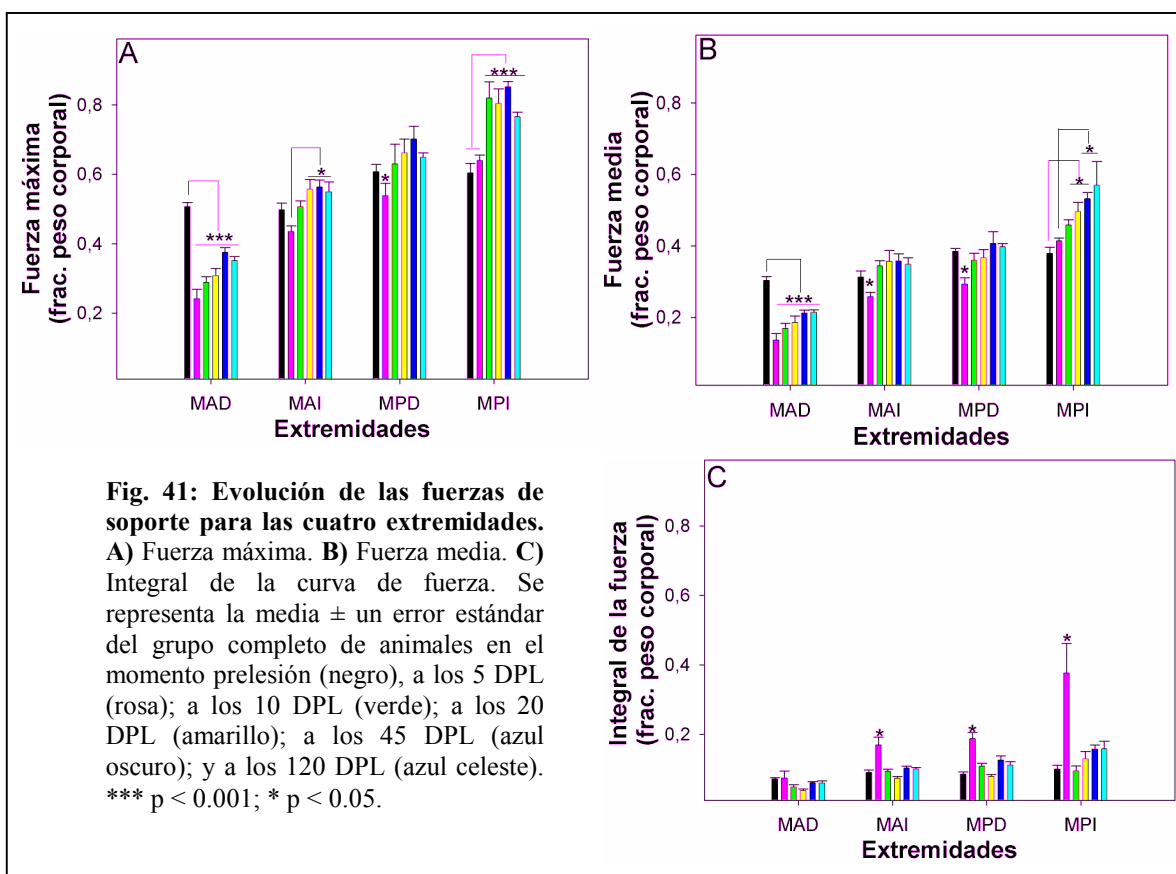
mostró cambios significativos ( $p = 0.104$ ), indicando que los animales fueron capaces de aumentar la duración del apoyo del MAD a los 5 DPL, mientras que a partir de los 10 DPL a los animales del primer experimento les resultó imposible .



Las fuerzas máximas de soporte para el *MPD* mostraron una tendencia no significativa a disminuir al día 5 DPL y a incrementarse por encima de los valores control a partir del día 10 DPL ( $p = 0.052$ ). Sin embargo, en la fuerza media de esta extremidad se detectó una pérdida del 25 % a los 5 DPL (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), que se recuperó a los 10 DPL y permaneció sin cambios significativos hasta los 120 DPL. Por el contrario, la integral bajo la curva de la fuerza del *MPD* aumentó más de un 100 % a los 5 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), confirmando que esta extremidad preserva la capacidad de compensar los trastornos inmediatos tras la lesión y contribuir al soporte corporal. La integral de la fuerza regresó a valores control a partir de los 10 DPL.

En el *MAI* las fuerzas máximas de soporte disminuyeron un 12 % a los 5 DPL, normalizándose a los 10 días y ascendiendo un 10 % por encima del control desde los 20 días hasta el final del seguimiento. Sólo las diferencias entre los 5 y los 20, 45 y 120 DPL resultaron significativas (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). La fuerza media se comportó casi idénticamente, con pérdida del 15 % a los 5 DPL, regreso al valor control a los 10 DPL y aumento posterior. La integral de la curva casi se duplicó a los 5 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS

$p < 0.05$ ) y volvió al valor prelesión a los 10 DPL.



En el *MPI* no se perdió fuerza máxima de soporte a los 5 DPL, y al igual que en el *MPD* esta se incrementó desde los 10 DPL hasta el final del seguimiento, pero en una cantidad mucho mayor (35 %) (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). La fuerza media tuvo un comportamiento muy parecido, siendo un 30 % superior al normal a los 120 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). La integral de la curva de fuerza se cuadruplicó a los 5 DPL, normalizándose a los 10 DPL. A partir de los 20 DPL hubo una tendencia ascendente que no logró significación estadística.

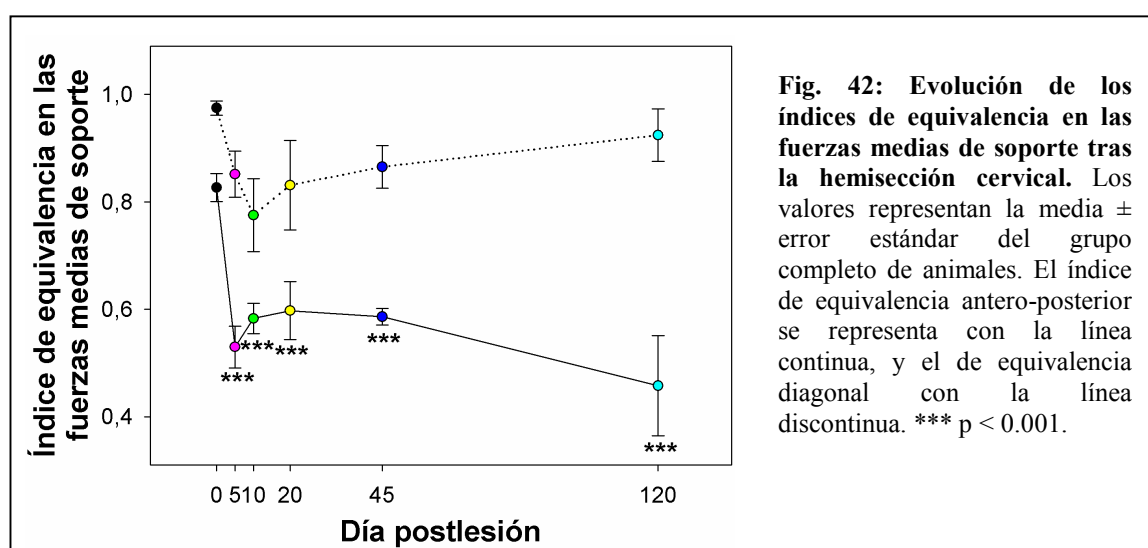
Recapitulando, de nuevo encontramos deficiencias primarias graves y persistentes en las fuerzas de soporte del *MAD*, verificables tanto en la fuerza máxima como en la media. El miembro de su par diagonal (*MPI*) no mostró nunca ninguna alteración y además, en contraste con el primer experimento, a los 5 DPL incrementó de forma marcada la integral de la fuerza y a partir de los 10 DPL también las fuerzas media y máxima en una cantidad que finalmente compensó la pérdida por el *MAD*. Por su parte, los miembros del otro par diagonal (*MPD/MAI*) mostraron una paresia leve y transitoria a los 5 DPI sin alteraciones crónicas y también adaptaron sus fuerzas, aunque de forma

más sutil que el MPI. Utilizamos la fuerza media de soporte ( $\bar{F}_z$ ) para calcular dos índices de equivalencia:

$$\text{Equivalencia de soporte antero-posterior} = \frac{\bar{F}_z \text{MAD} + \bar{F}_z \text{MAI}}{\bar{F}_z \text{MPD} + \bar{F}_z \text{MPI}}$$

$$\text{Equivalencia de soporte diagonal} = \frac{\bar{F}_z \text{MAD} + \bar{F}_z \text{MPI}}{\bar{F}_z \text{MAI} + \bar{F}_z \text{MPD}}$$

Como se observa en la Fig. 42, la equivalencia en el soporte antero-posterior se altera de forma persistente tras la lesión (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), magnificándose la asimetría fisiológica que implica un mayor soporte con los miembros posteriores. Al calcular la equivalencia utilizando las integrales de la fuerza encontramos un resultado muy similar, confirmando que tras la hemisección el tren posterior realiza un esfuerzo mucho mayor que el anterior para el soporte. Por otra parte, después de una pérdida de equivalencia en el soporte con los dos pares diagonales en los primeros 5 A 10 DPL (mayor soporte con el par MPD/MAI), su índice se recuperó progresivamente hasta valores cercanos a la normalidad, sin que se detectaran diferencias a los 120 DPL ( $p = 0.161$ ).

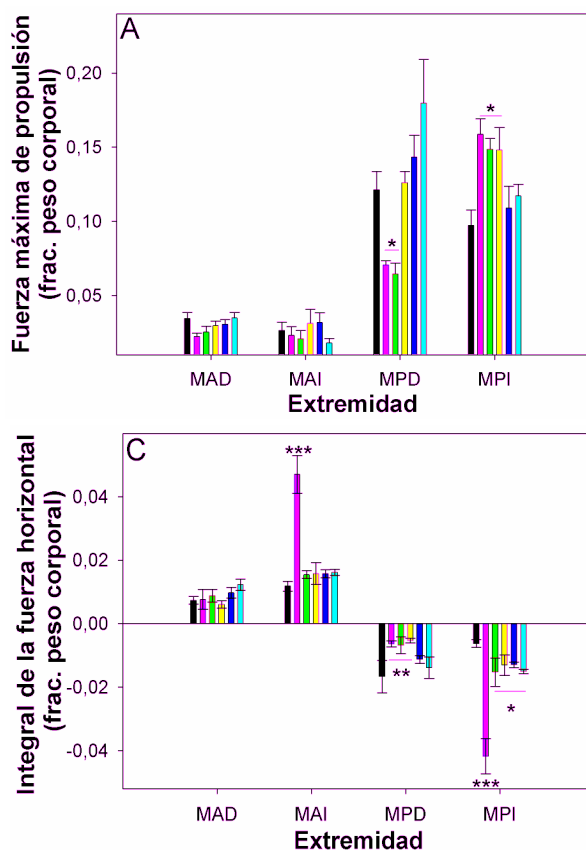


### 5.2.3.2 Fuerzas de propulsión y frenado

Tras la hemisección medular, las *fuerzas máximas de propulsión* no se modificaron significativamente en el MAD ni el MAI, pero en el MPD descendieron un 42 % entre los 5 y los 10 DPL para normalizarse a los 20 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) mientras que en el MPI aumentaron un 53 % entre los 5 y los 20 DPL y se normalizaron a los 45 y 120 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Por otra parte, a los 5 DPL se encontró una reducción significativa del 38 % en la *fuerza máxima de frenado* en el MAD, que recuperó su valor prelesional a los 10 DPL y se mantuvo sin variación hasta el final del seguimiento. Por el contrario, las otras tres extremidades, MAI, MPD y MPI aumentaron significativa y persistentemente sus máximos de frenado postlesión un 60 %, 40 % y 50 %, respectivamente (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Fig. 43]. El comportamiento de las fuerzas medias fue muy similar al de las máximas.

La *integral de la fuerza de avance* equivale a la suma de las integrales de propulsión y frenado y por consiguiente nos proporciona el efecto neto de las fuerzas de cada extremidad, que en condiciones normales es frenado con las anteriores y propulsión con las posteriores. Tras la lesión, en ninguna de las extremidades se modificó el signo de la integral de la fuerza de avance (Fig. 43C), aunque sí cambió su valor absoluto en todas, excepto en el MAD. En el MAI casi se cuadruplicó a los 5 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), volviendo a la normalidad a los 10 días y sin cambios posteriores. En el MPD disminuyó un 48 % entre los 5 y los 20 DPL y recuperó el valor prelesión a los 45 y 120 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Pero el cambio más marcado lo presentó el MPI, que quintuplicó el valor absoluto de la integral a los 5 DPL. A partir de los 10 DPL y hasta los 120 DPL el valor de la integral descendió, pero todavía fue casi el doble del prelesión, teniendo dicho aumento diferencia estadística respecto al valor normal, y el de los 5 DPL diferencia con todos los otros (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). En resumen, ocurrió una readaptación muy temprana de las fuerzas de avance para conseguir marcha funcional tras la hemisección. Mientras que en el miembro más afectado (MAD)

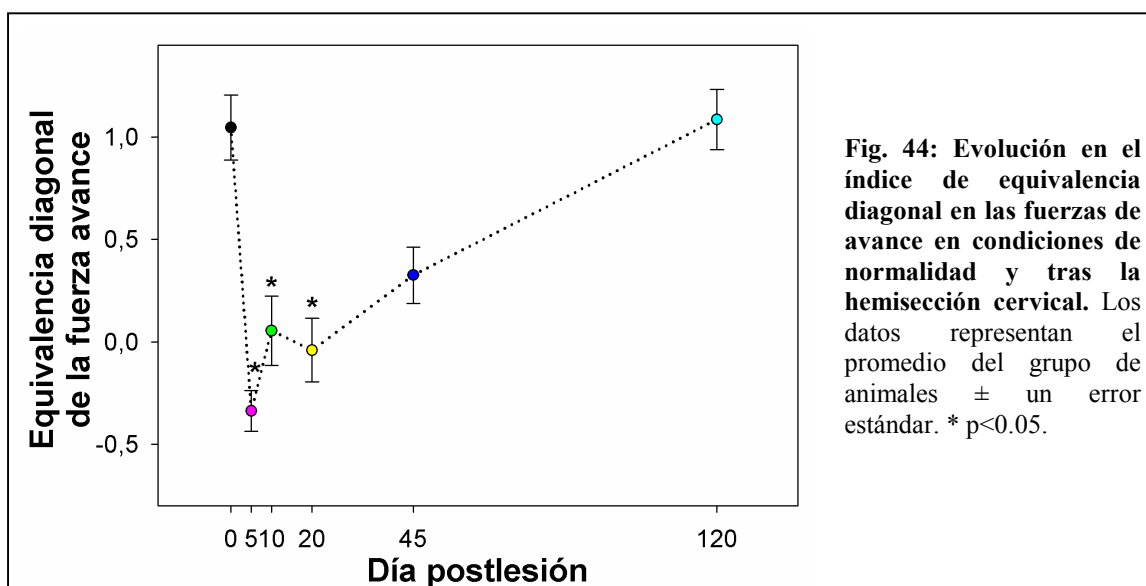
disminuyeron o no se modificaron significativamente estas fuerzas, hubo sobreuso de los miembros del lado izquierdo, propulsándose más con el MPI y frenándose más con el MAI. En los primeros días disminuyó la propulsión con el MPD, pero a partir de los 45 DPL no hubo diferencia con el valor control.



**Fig. 43: Fuerzas de avance para las cuatro extremidades en normalidad y tras hemisección medular. A) Fuerza máxima de propulsión. B) Fuerza máxima de frenado. C) Integral de la fuerza de avance.** En A y B se presenta el valor absoluto, mientras que en C se presenta el valor real (los valores positivos indican frenado y los negativos propulsión). Los datos son la media  $\pm$  error estándar del grupo completo de animales. En negro, control, y en rosa, verde, amarillo, azul oscuro y azul celeste los 5, 10, 20, 45 y 120 DPL, respectivamente. \*\*\*p<0.001; \*\*p<0.01; \*p<0.05.

Resulta relevante considerar la sumatoria de integral de avance de las cuatro extremidades - si es  $> 0$  habrá propulsión neta durante el ciclo y si es menor, frenado- y el grado de simetría entre pares diagonales, cuya contribución neta se expresará en un índice similar al de la sección 5.2.3.1, pero sustituyendo el soporte por la integral de la fuerza de avance para cada extremidad. En promedio, tanto en condiciones de normalidad como tras la lesión la sumatoria de la integral de la fuerza de avance para las cuatro extremidades no fue diferente de 0 (ANOVA de una vía,  $p = 0.867$ ), lo que significa que globalmente no hubo ganancia neta de velocidad en los distintos ciclos, porque aquellos en los que hubo propulsión neta fueron contrarrestados con los que presentaron frenado neto.

Por su parte, el índice de simetría entre pares diagonales fue aproximadamente 1 en condiciones de normalidad, pero entre los 5 y los 20 DPL la simetría en la aportación de los dos pares se rompió por completo (Fig. 44), arrojando incluso valores negativos debido al incremento de propulsión con el par MAD/MPI (mayoritariamente por el MPI) y de frenado con el par MAI/MPD (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). No obstante, el índice se normalizó paulatinamente, siendo de nuevo 1 al final del seguimiento. La mayor propulsión con el par MAD/MPI en los primeros DPL representa un mecanismo compensatorio, que somete a un mayor esfuerzo al par diagonal menos débil (MAI/MPD) cuando recibe el cuerpo acelerado. Aunque el patrón se normalizó con los meses de evolución, los máximos continuaron alterados y además el MPI asumió en mayor proporción la fuerza de soporte perdida por el MAD (Fig. 41), permitiendo así mantener el balance durante la transferencia de carga desde el par MPD/MAI. De estos datos se desprende que los animales aún utilizan la coordinación basada en pares diagonales tras la hemisección para mantener la velocidad de la marcha y la estabilidad corporal.



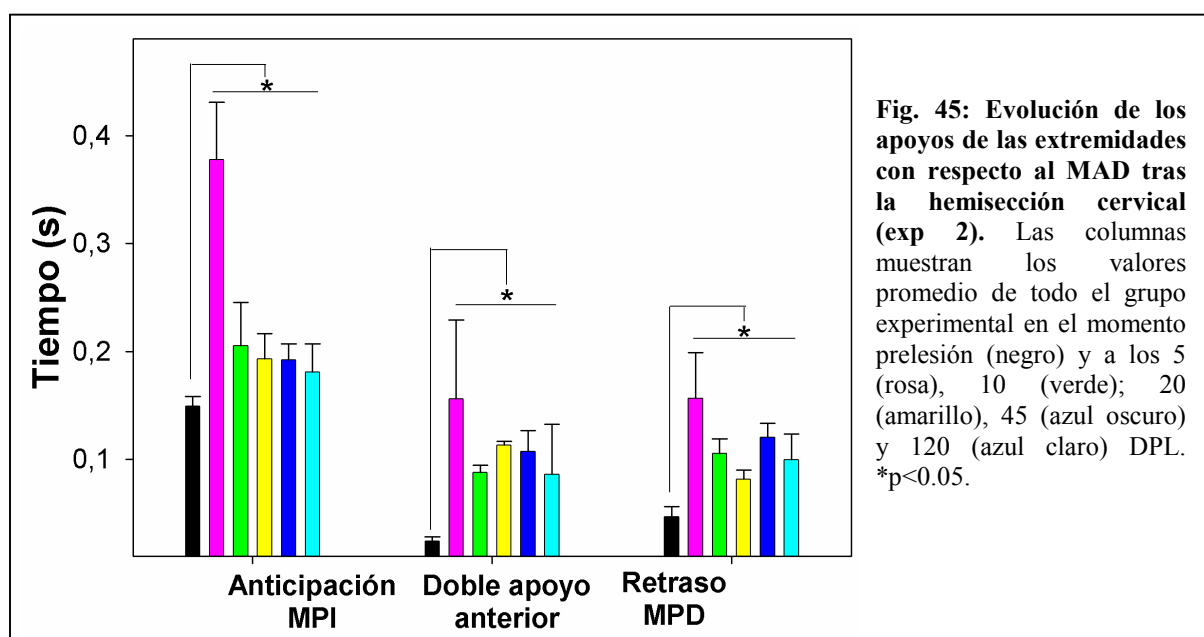
#### 5.2.4. Cinemática

##### 5.2.4.1 Parámetros temporales del ciclo de marcha

##### Secuencia temporal entre los apoyos dentro de cada par diagonal

Del mismo modo que ya vimos en el experimento 1, tras la hemisección se anticipó

significativamente el apoyo del MPI y se retrasó el despegue del MPD (ANOVA de una vía  $p<0.01$ , posttest de HS  $p<0.05$ ) para evitar la claudicación del MAD en el momento en que dicha extremidad recibía el peso corporal. En la segunda mitad del apoyo, fue el MAI quien auxilió al MAD, lo que explica que el tiempo de doble apoyo anterior también se elevara marcadamente después de la hemisección (ANOVA de una vía  $p<0.01$ , posttest de HS  $p<0.05$ ) [Fig. 45].



#### Fases de apoyo, aéreas y duraciones de los ciclos

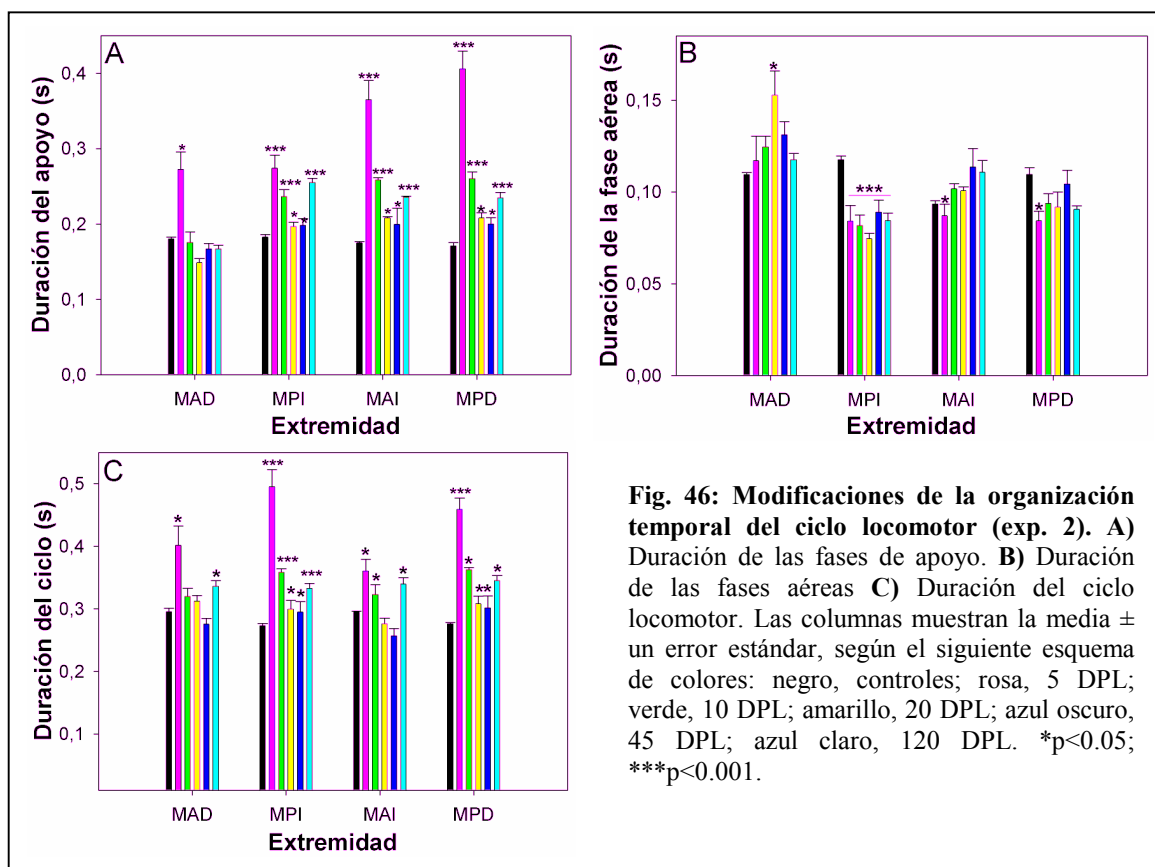
*MAD*: la fase de apoyo se alargó a los 5 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ) y recuperó los valores prelesión a partir de los 10 DPL. La fase aérea también se prolongó, aunque sólo significativamente a los 20 DPL (ANOVA  $p<0.05$ ; posttest de HS  $p<0.05$ ). El ciclo se alargó cerca del 30 % a los 5 DPL y del 10 % a los 120 DPL frente al control y a los 10, 20 y 45 DPL (ANOVA  $p<0.001$ ; posttest de HS  $p<0.05$ ).

*MPI*: tanto el apoyo como el ciclo se prolongaron mantenidamente tras la lesión, siendo mayor dicho aumento a los 5, 10 y 120 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). Por el contrario, la fase aérea se acortó permanentemente alrededor del 30 % (ANOVA de una vía  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

*MAI*: se prolongó la fase de apoyo un 108 % a los 5 DPL, un 48 % a los 10 DPL y alrededor de un 30 % entre los 20 y los 120 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). A los

5 DPL se acortó la fase aérea (ANOVA  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ), pero a los 10 DPL volvió al valor control hasta el final del seguimiento. Los ciclos se prolongaron a los 5, 10 y los 120 DPL, siendo el aumento mayor a los 5 DPL frente a los 10 y 120 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ).

**MPD:** la duración del apoyo y del ciclo se extendieron tras la hemisección, siendo el aumento máximo a los 5 DPL (101 % el apoyo y 80 % el ciclo, respectivamente). Entre los 10 y los 45 DPL las duraciones tendieron hacia la normalización, pero a los 120 DPL volvieron a ascender (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). La fase aérea de esta extremidad solo se acortó a los 5 DPL (ANOVA  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ) [Fig. 46].

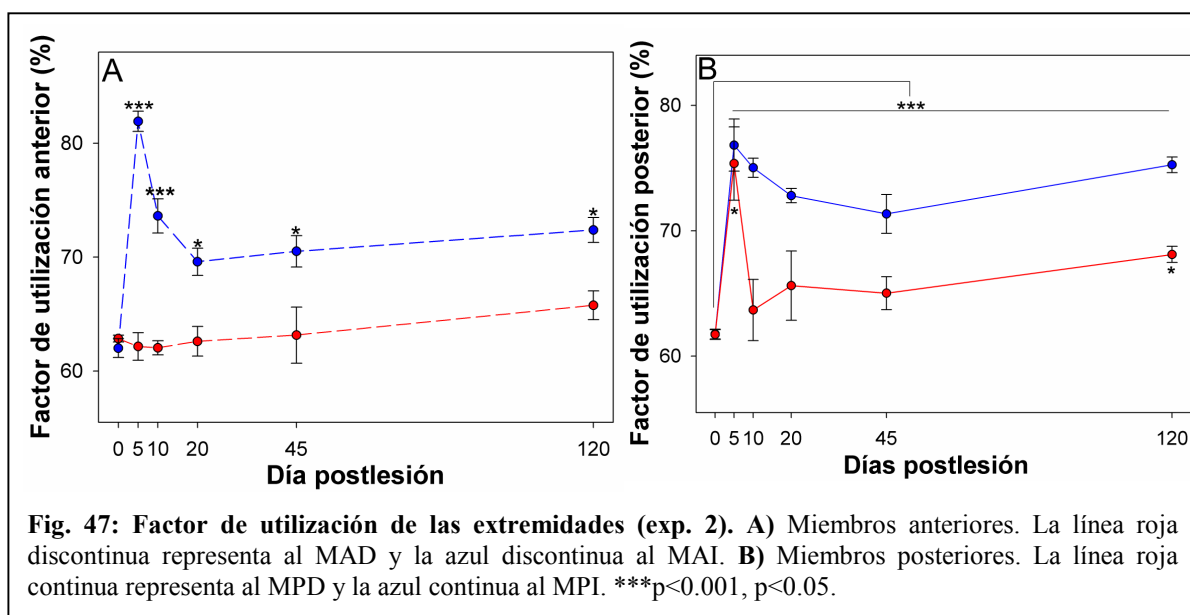


El factor de utilización no pudo modificarse en el MAD (ANOVA  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). En el MPD aumentó significativamente a los 5 DPL, para retornar a los valores control a partir de los 10 DPL. Tanto MAI como MPI lo incrementaron significativamente desde los 5 DPL hasta el final del seguimiento (ANOVA  $p<0.001$ ), aunque con variaciones según el momento de evaluación. Existieron diferencias significativas entre los 5 DPL y el resto de los registros



postlesión tanto en el MAI como en el MPI (posttest de HS  $p < 0.05$ ), y en el MPI entre los 10 y 120 DPL frente a los 20 y los 45 DPL (posttest de HS  $p < 0.05$ ). Al contrario de los que sucedió en el experimento 1, el factor de utilización del MPI fue mayor que el del MPD en todo el periodo postlesión (ANOVA de dos vías  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Figs. 24 y 47], lo que probablemente responda a la optimización de las lesiones en el segundo experimento, en el que se dejó indemne el lado izquierdo de la médula y se lesionó más completamente el lado derecho.

En síntesis, a los 5 DPL se observó un aumento drástico en la duración de las fases de apoyo, del ciclo y del factor de utilización de las cuatro extremidades, mientras que la fase aérea se acortó en todas excepto el MAD. Algunos parámetros se normalizaron parcialmente entre los 10 y 20 DPL, pero se detectó un sobreuso crónico de las extremidades izquierdas. El aumento en la duración del apoyo del MAD a los 5 DPL indica que la organización del ciclo locomotor es fácilmente adaptable aún tras la lesión, contrariamente a lo que sucede con la fuerza, que se pierde crónicamente.

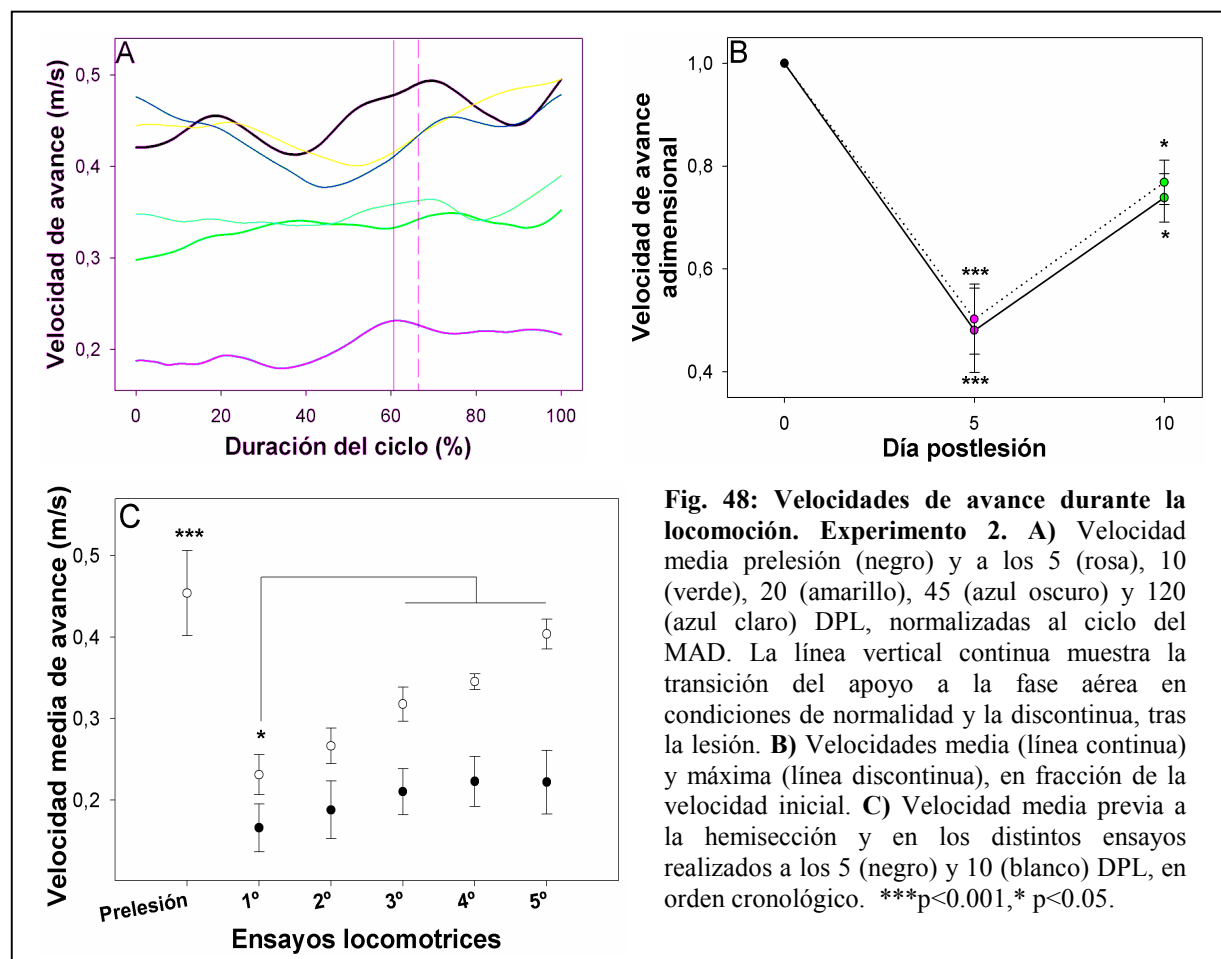


### Velocidades

Habiendo constatado que en general las fuerzas y la organización del ciclo de marcha se modificaron de forma similar en ambos experimentos, en adelante expondremos solamente los hallazgos más relevantes de la cinemática de los animales del segundo experimento, principalmente la de los 5 y 10 DPL para definir mejor las características de la fase aguda de la lesión.

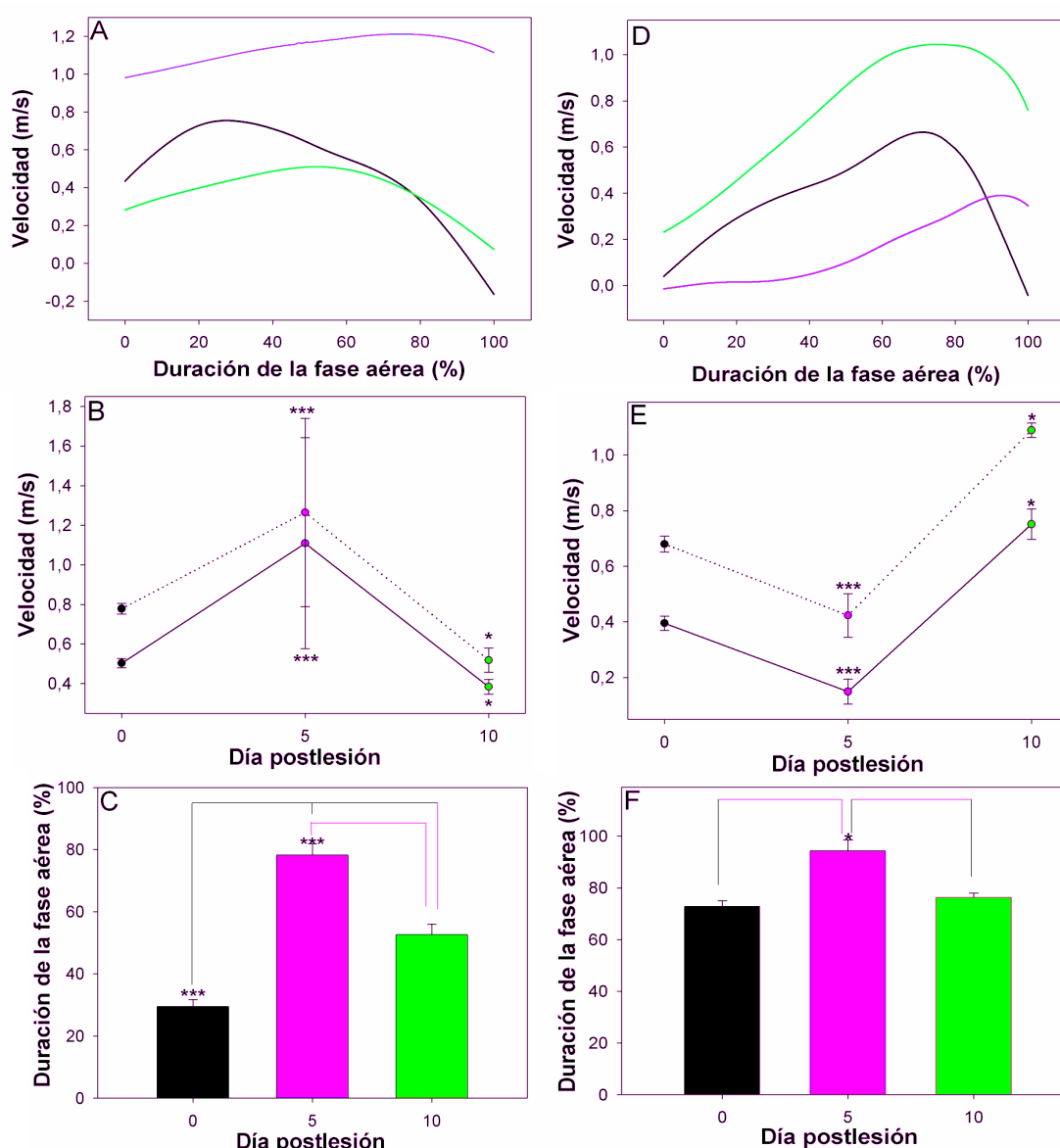
Las curvas de velocidad de avance a los 5 y 10 DPL no mostraban el pico generado durante el apoyo del MAD, aunque sí el debido al otro par diagonal (Fig. 48A). A los 5 DPL la *velocidad media de avance* se redujo un 55 % (prelesión,  $0.452 \pm 0.002$  m/s; postlesión,  $0.204 \pm 0.002$  m/s), recuperándose a los 10 DPL la mitad de la pérdida ( $0.332 \pm 0.001$  m/s) (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) (Fig. 48B). En el experimento inicial se describió una adaptación muy rápida de la velocidad de avance, cuyo valor promedio a los 10 DPL era menor que el valor normal pero se normalizaba entre el primero y el último ensayo del mismo día (Fig. 36C). En el primer ensayo de los 5 DPL del segundo experimento la velocidad se encontró reducida en más del 50 % con respecto al valor normal (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) y no hubo recuperación significativa en los otros cuatro ensayos del mismo día. En el primer ensayo del 10° DPL, la pérdida era aún del 45 % pero, al igual que en el primer experimento, se recuperó progresivamente el mismo día, de modo que a partir del tercer ensayo ya era mayor que en el primero (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), y en el quinto no presentaba diferencias significativas en comparación con el valor prelesión (Fig. 48C).

La *velocidad vertical* previa a la lesión también oscilaba en torno a cero, con dos picos positivos, el primero de los cuales se perdió por completo tras la hemisección. El cálculo de las fuerzas globales por dinámica inversa mostró que la sumatoria de fuerzas netas de avance descendió un 60 % a los 5 DPL y se recuperó parcialmente a los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Por su parte, la sumatoria de fuerzas de soporte descendió drásticamente, un 74 % a los 5 DPL y también se recuperó notoriamente hasta el 65 % a los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.01$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). Estos análisis, junto con las mediciones directas de las fuerzas de reacción (sección 5.2.3.1), sugieren que a los 5 DPL los animales se encuentran en shock medular. En esta etapa temprana, las compensaciones esencialmente van dirigidas a intentar mantener el cuerpo elevado mediante prolongación y solapamiento de los apoyos. A los 10 DPL pueden activar otros mecanismos compensatorios para normalizar la velocidad de avance, aunque persiste la marcada pérdida funcional extensora del MAD. A partir de este momento, se utiliza cada uno de los ensayos locomotores para buscar un patrón de movimiento óptimo en su nueva circunstancia.



Las curvas prelesión de *velocidad relativa del MAD* y *del MPD* durante la fase aérea (Fig. 49) fueron muy similares a las ya descritas. A los 5 DPL se modificó mucho la del *MAD*, y aunque el movimiento era más rápido, se estrechó su rango (0.230 m/s de rango a los 5 DPL frente a 0.918 m/s de valor prelesión) y se retrasó el pico máximo hasta el final de la fase aérea. A los 10 DPL, la velocidad del *MAD* disminuyó más proximos al normal. Tanto en el rango como en la latencia al pico, existieron diferencias estadísticamente significativas entre el valor prelesión y los postlesión, y entre los 5 DPL y los 10 DPL (ANOVA  $p < 0.05$ , postest de HS  $p < 0.05$ ). A los 5 DPL aumentaron las *velocidades media* y *máxima* en torno a un 50 % y un 40 %, respectivamente, para descender a los 10 DPL por debajo de los valores control (ANOVA  $p < 0.001$ , postest de HS  $p < 0.05$ ). La velocidad del *MPD* también tuvo un rango significativamente menor a los 5 DPL (0.404 m/s frente a 0.7069 m/s de valor control; ANOVA  $p < 0.05$ , postest de HS  $p < 0.05$ ) y un retraso del pico máximo que se recuperó a los 10 DPL. Sus *velocidades media* y *máxima* disminuyeron a los 5 DPL un 50 % y un 40% respectivamente, pero aumentaron casi duplicando el valor normal a los 10 DPL

(ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ). El aumento inicial de velocidad en el MAD probablemente se deba a hiperactivación de los flexores proximales de la extremidad, sin alteración funcional tras la lesión por estar inervados por segmentos cervicales superiores a C6. La disminución transitoria en la velocidad del MPD resulta muy interesante, porque podría deberse al shock medular puesto que la inervación de todos sus músculos depende de segmentos medulares infralesionales, pero también podría representar una estrategia compensadora para producir pasos más cortos que faciliten el mantenimiento del balance. A los 10 DPL dicha extremidad ya evidenciaba signos de hiperfuncionamiento de esta extremidad.



**Fig. 49:** Velocidades relativas de avance del MAD y el MPD durante la fase aérea (exp.2). A) Curva de velocidad media descrita por el MAD. B) Evolución de la velocidad media (línea continua) y máxima (discontinua) del MAD. C) Evolución de la latencia a la velocidad pico en el MAD. D) Curva de velocidad media descrita por el MPD. E) Evolución de la velocidad media y máxima del MPD. F) Evolución de la latencia a la velocidad pico del MPD. En A, C, D y F, las líneas y barras de color negro corresponden a los registros prelesión, y de color rosa y verde a los 5 y 10 DPL, respectivamente. \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$ .

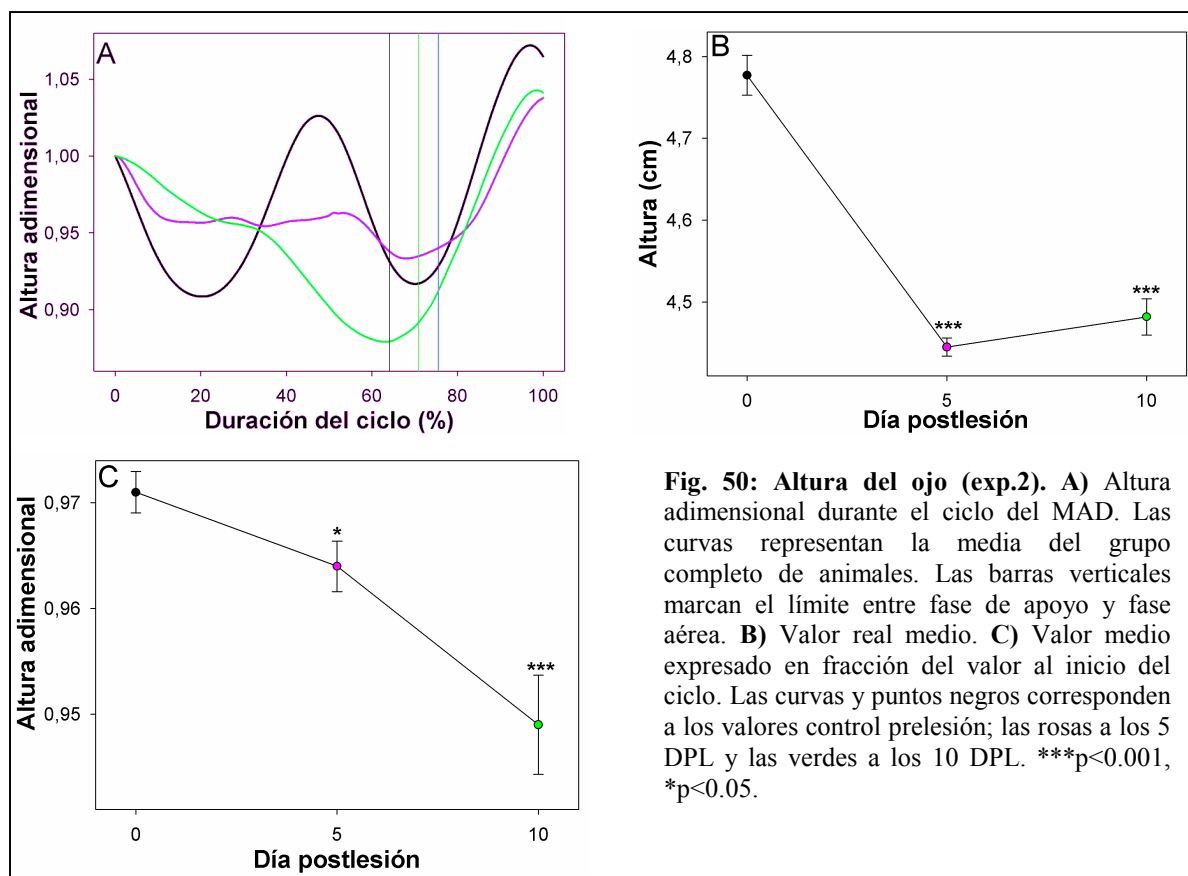
#### 5.4.2.1 Parámetros geométricos

##### Alturas del ojo, hombro y cadera

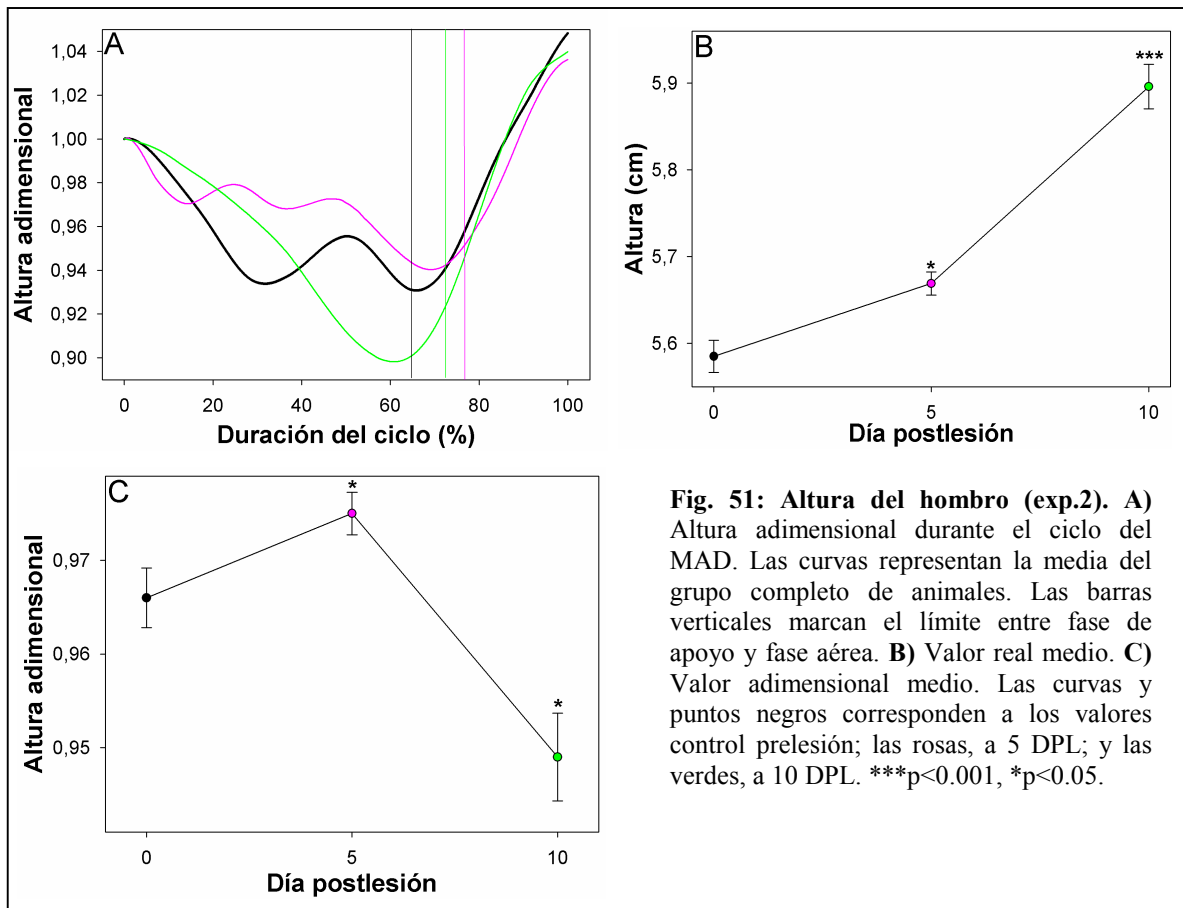
*Altura del ojo:* A los 5 DPL se perdió el primer pico de altura durante el apoyo del MAD (Fig. 38A); el ojo primero descendió ligeramente y se mantuvo en una meseta hasta justo antes de comenzar la fase aérea. La caída total fue solo del 6 % frente al 9 % que ocurre en condiciones de normalidad, pero este menor descenso se debió a que las cuatro extremidades prolongaron mucho sus tiempos de apoyo (Fig. 46) para mantener el balance.

En la fase aérea del MAD se ganó de nuevo la altura inicial por la acción de las otras extremidades. A los 10 DPL ya se instauró el patrón descrito en el experimento 1: descenso progresivo en prácticamente toda la fase de apoyo, con un valor mínimo inmediatamente antes de iniciar la fase aérea, y un ascenso continuo en toda la fase aérea hasta el valor máximo justo antes del nuevo apoyo. La mayor caída relativa a los 10 DPL no significó un empeoramiento funcional, sino que se debió a que en la segunda mitad del apoyo del MAD existía un menor solapamiento de los apoyos de las otras extremidades. Se manifestaba entonces la paresia del MAD, claudicando cuando se le transfería la carga corporal. De hecho, en promedio la pérdida real de altura ya fue máxima a los 5 DPL (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ; Fig. 50B), aunque a los 10 días hubiera una mayor pérdida relativa (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ; Fig. 50C).

La *altura del hombro* mostró una tendencia parecida a la del ojo, tanto en condiciones de normalidad como a los 5 y 10 DPL (Fig. 51A), aunque con ciertas diferencias en los valores reales y relativos de los cambios. La altura real media del aumentó leve pero significativamente tras la hemisección, un 2 % a los 5 días y un 6 % a los 10 días (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ) [Fig. 51B], estabilizándose en dicho valor aumentado hasta el final del seguimiento. Por su parte, la altura media adimensional aumentó un 2 % a los 5 DPL, mientras que a los 10 días descendió un 3 % por debajo del valor normal ((ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ; Fig. 51C).



Al igual que en el primer experimento, desde los 5 DPL la altura del ojo pasó a depender linealmente de la altura del hombro durante la fase de apoyo del MAD. Esta relación lineal fue permanente (Tabla 4), indicando que la caída del tren anterior es un signo fidedigno de la paresia del MAD. Además, también aumentó progresivamente la oscilación de la altura adimensional, acompañando a los mecanismos compensatorios que permitían restaurar la velocidad y otros parámetros de la marcha a valores cercanos a la normalidad. Estos datos implican que los cambios compensatorios en el estilo locomotor entran en juego desde los 5 DPL, aunque inicialmente tienen como prioridad mantener el balance. A los 10 días el cuerpo ya se coloca más elevado al inicio del ciclo y sufre una mayor oscilación relativa para permitir un desplazamiento eficiente y funcional. Es interesante resaltar que en este segundo experimento el comportamiento de la altura del hombro a los 10 DPL, tanto en valores reales como relativos, fue similar al que se halló en el primer experimento a los 20 DPL, sugiriéndonos que los ensayos locomotrices a los 5 días habrían ayudado a establecer más precozmente algunas de las compensaciones.



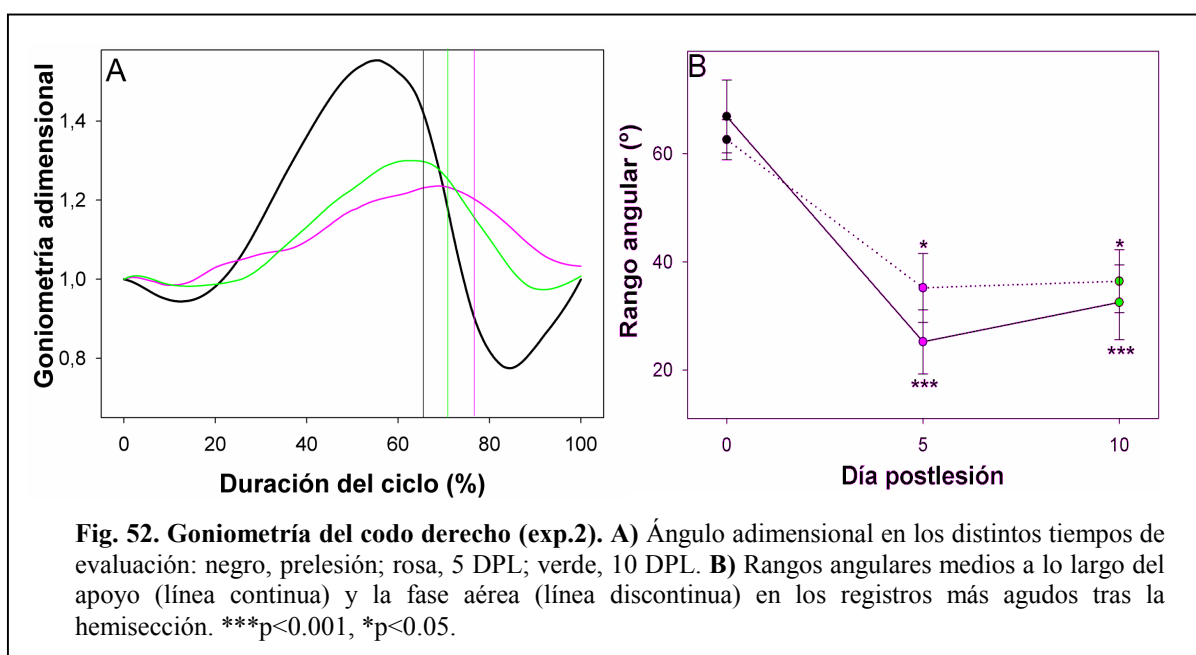
**Tabla 4.** Parámetros de la correlación lineal entre las alturas de hombro y ojo en el experimento 2.

Día de evaluación	Coficiente	SE	t	p
<b>Prelesión</b>	$R = 0,331$	0,039		
$y_0$	0,024	0,117	0,202	0,841
$a$	0,980	0,121	8,089	<0,001
<b>5 DPL</b>	$R = 0,921$	0,006		
$y_0$	0,123	0,041	3,019	<0,0001
$a$	0,862	0,042	20,407	<0,0001
<b>10 DPL</b>	$R = 0,991$	0,005		
$y_0$	-0,091	0,014	-6,318	<0,0001
$a$	1,085	0,015	71,695	<0,0001
<b>20 DPL</b>	$R = 0,946$	0,004		
$y_0$	-0,259	0,01	-25,104	<0,0001
$a$	1,250	0,011	111,533	<0,0001
<b>45 DPL</b>	$R = 0,972$	0,012		
$y_0$	-0,134	0,024	-5,508	<0,0001
$a$	1,1	0,027	41,329	<0,0001
<b>120 DPL</b>	$R = 0,969$	0,017		
$y_0$	-0,107	0,025	-4,386	<0,0035
$a$	1,060	0,027	38,854	<0,0001

*Altura de la cadera:* Las curvas de los 5 y 10 DPL siguieron un patrón similar con mayor oscilación y picos más abruptos (rango prelesión, 0.63 cm; rango postlesión, 1.39 y 0.88 cm para los 5 y 10 días. ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). La altura media real de la cadera descendió un 7 % a los 5 DPL y se elevó en torno al 3 % a los 10 días con respecto al valor control (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). Por el contrario, a los 5 días su altura adimensional aumentó un 3 % y a los 10 disminuyó un 4 % respecto al valor control (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ). Igual que para otras variables, la altura de la cadera a los 5 y 10 DPL del segundo experimento fue equivalente a los 10 y 20 DPL del primero respectivamente, proporcionando evidencias de que en el segundo experimento las compensaciones se desarrollaron más precozmente debido al inicio más precoz de la evaluación postlesión.

### Goniometrías

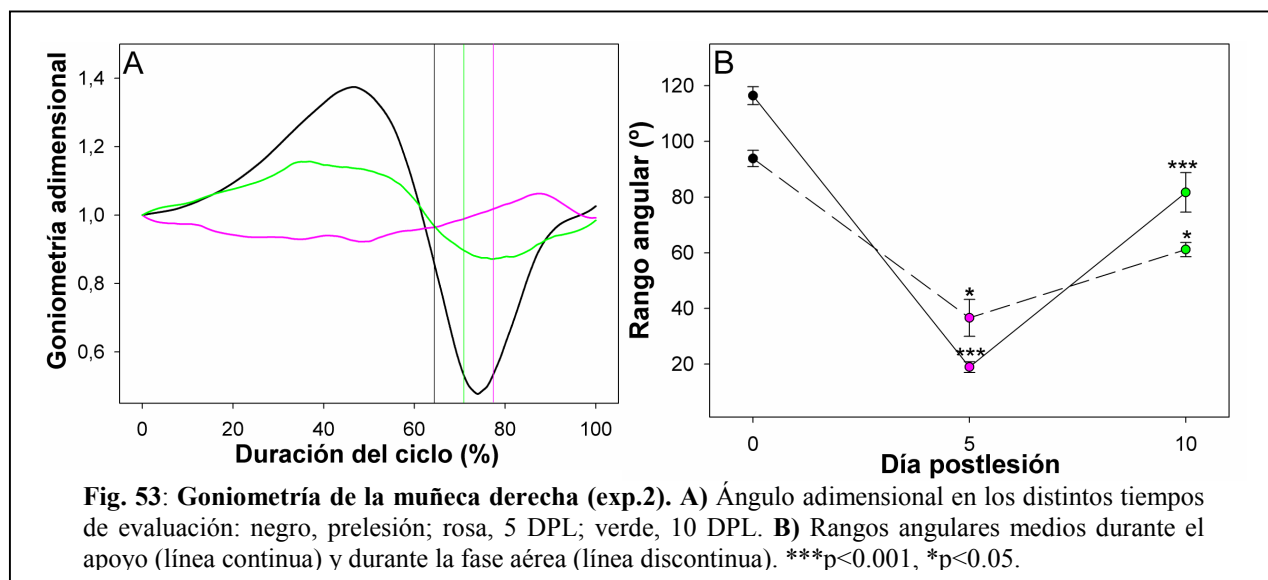
A los 5 DPL, la goniometría del codo tuvo los cambios que ya describimos para los 10 DPL en el primer experimento, pero con mayor intensidad: la fase extensora de los dos tercios finales del apoyo se aplanó mucho y el pico máximo descendió más del 50 % con respecto al normal (ANOVA  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ) [Fig. 52A].





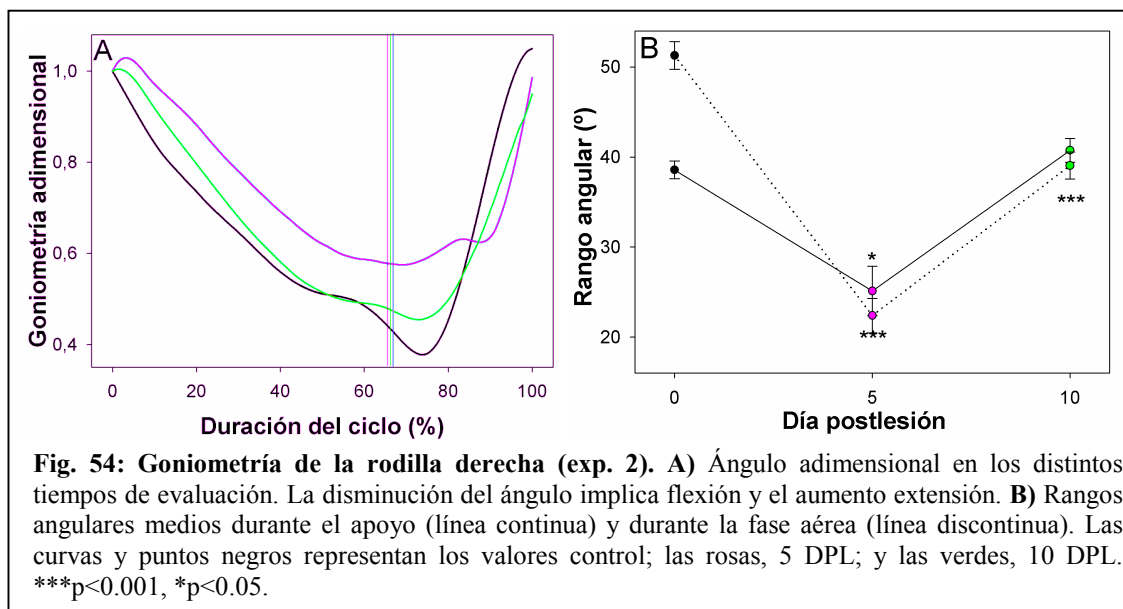
En la fase aérea también se disminuyó notoriamente la flexión y como consecuencia, a los 5 DPL el rango del codo (Fig. 52B) disminuyó más del 65 % durante el apoyo y algo menos del 60 % durante la fase aérea (ANOVA  $p<0.001$ , postest de HS  $p<0.05$ ). A los 10 DPL, la curva fue similar pero con algo más de extensión al final del apoyo y sin recuperación del rango articular y a partir de los 20 DPL, las goniometrías se superpusieron con las del experimento inicial.

A los 5 DPL el *ángulo de la muñeca* se redujo drásticamente tanto en extensión como en flexión (Fig. 53A). A los 10 DPL mostró solo una leve recuperación, existiendo aún una pérdida del 60 % en el pico de extensión durante el apoyo y del 70 % en el pico de flexión durante la fase aérea (ANOVA  $p<0.001$ , postest de HS  $p<0.05$ ). El rango articular medio durante el apoyo cayó un 85 % a los 5 DPL y se recuperó parcialmente hasta el 65 % del valor normal a los 10 DPL (ANOVA  $p<0.001$ , postest de HS  $p<0.05$ ; Fig. 53B). Durante la fase aérea también se redujo el rango articular, sustancialmente a los 5 DPL y algo menos los 10 DPL, en que se comprobó tan solo una pequeña recuperación, manteniéndose la pérdida sin cambios hasta el final del seguimiento (ANOVA  $p<0.001$ ; postest de HS  $p<0.05$ ).



La *goniometría de la rodilla* (Fig. 54A) conservó la forma normal, pero mostró menor flexión durante todo el ciclo, funcionando como en el experimento 1, siempre más extendida. Estos cambios se reflejaron en el rango articular (Fig. 54B), que a los 5 DPL se redujo un 20 % durante el

apoyo (ANOVA  $p<0.05$ , posttest de HS  $p<0.05$ ), pero se recuperaron a los 10 DPL. En la fase aérea, el rango articular disminuyó un 50 % a los 5 DPL, y a los 10 DPL continuaba descendido un 35 % (ANOVA  $p<0.001$ ; posttest de HS  $p<0.05$ ). A partir de los 20 DPL, la goniometría se normalizó completamente.



En la *goniometría del tobillo* también se detectó un aumento de la extensión durante el apoyo y en el tercio inicial de la fase aérea a los 5 DPL, y el pico de flexión se desplazó hasta el final de la fase aérea. No se detectaron trastornos funcionales permanentes.

#### Coordinación interna y posicionamiento de las extremidades

De igual modo que en el primer experimento, se midió la distancia de la muñeca y el tobillo con respecto al hombro y la cadera respectivamente, con el fin de conocer la contribución real de la flexo-extensión de las articulaciones proximales al posicionamiento de las extremidades y su orientación en el plano de avance. Tras la lesión se mantuvo la forma de la curva para ambas extremidades, indicando conservación de los mecanismos de coordinación intrínseca de flexo-extensión. Entre los 5 y los 20 DPL se redujo el desplazamiento posterior extremo para el MAD (ANOVA de una vía  $p<0.001$ , posttest de HS  $p<0.05$ ), en consonancia con la pérdida de extensión del codo. La pérdida de desplazamiento fue máxima a los 5 DPL y se recuperó paulatinamente

entre los 10 y los 20 DPL, hasta alcanzar valores estadísticamente similares al control. También a los 5 y los 10 DPL disminuyó el rango real de desplazamiento para el MPD (ANOVA  $p < 0.001$ , posttest de HS  $p < 0.05$ ), que se recuperó hasta valores prelesión a partir de los 20 DPL y hasta el final del seguimiento.

### 5.3. Integración de la locomoción: déficit focales con repercusión global.

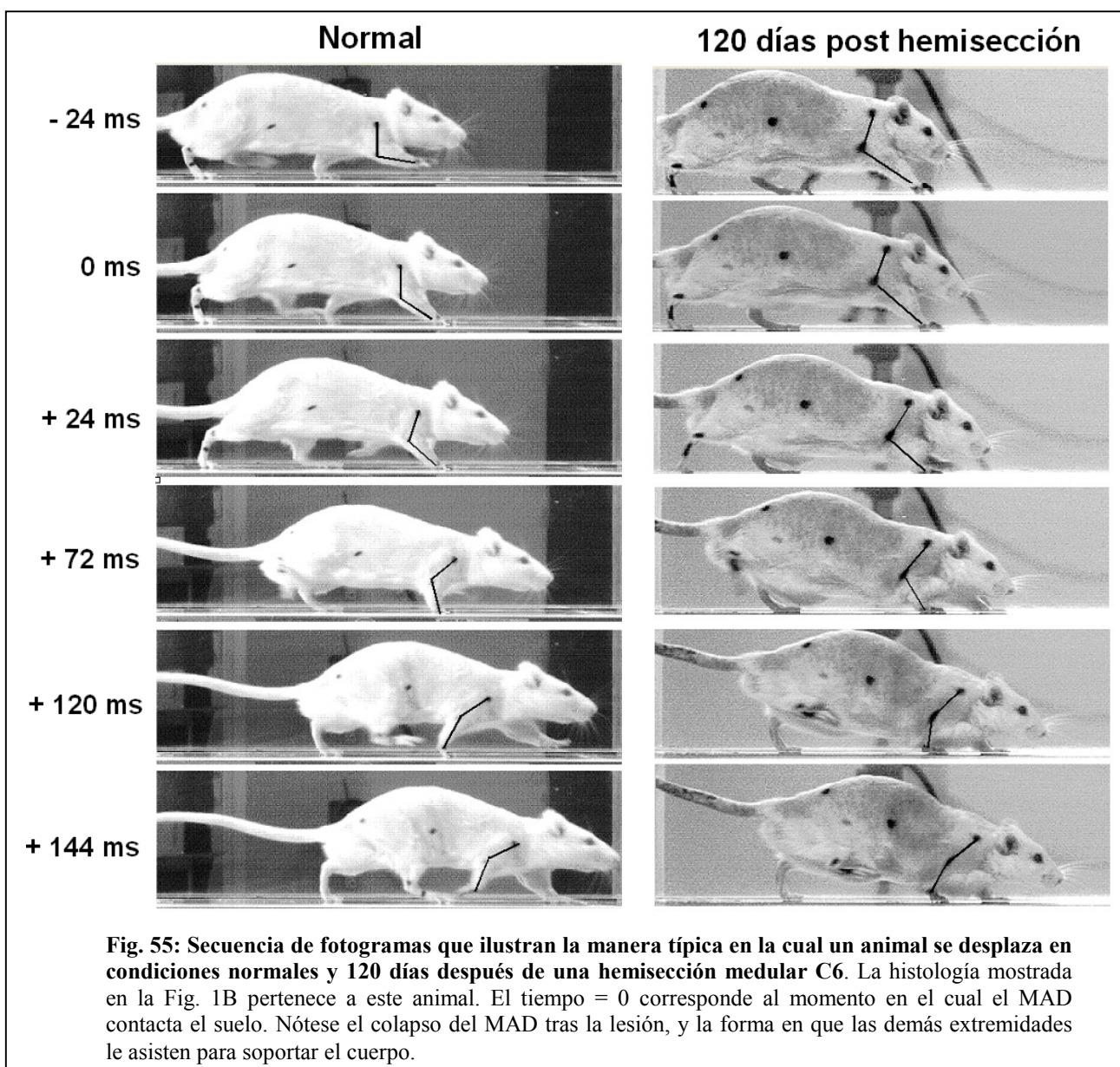
Los datos que se han expuesto demuestran que la pérdida permanente de la fuerza extensora del codo del MAD origina la mayoría de alteraciones locomotrices después de la hemisección C6 y obliga a utilizar los circuitos neurales no lesionados para desarrollar estrategias compensatorias que permiten un desplazamiento eficiente. La consecuencia cinemática más directa del déficit de fuerza es el fallo del MAD para soportar y elevar el cuerpo durante el apoyo: el MAD se colapsa bajo la carga del cuerpo y requiere la ayuda de las otras extremidades (Fig. 55), obligando al animal a modificar globalmente la organización temporal de las fases de apoyo y los patrones de fuerza. La anticipación de los apoyos del MAI y del MPI auxilia al MAD y evita que la caída del cuerpo sea todavía mayor, pero también altera la progresión de la marcha, por lo que analizamos si existía interdependencia entre las fuerzas de soporte y el balance corporal, puesto que entendemos que este último es prioritario para conseguir la traslación efectiva durante la locomoción.

Con el término *balance* nos referimos al mantenimiento de la posición elevada del cuerpo durante la locomoción. En la dirección del avance, los extensores de los miembros anteriores se oponen a las fuerzas que tienden a inclinar el cuerpo hacia delante al apoyarse, evitando así oscilaciones de altura excesivas<sup>223, 39</sup>. Llamaremos *pérdida de balance* al aumento en la oscilación en altura del cuerpo que se desarrolló en el periodo crónico postlesión. Resulta paradójico que el balance empeorara progresivamente, mientras la fuerza máxima de soporte del MAD experimentaba un pequeño aumento tanto en el experimento 1 como el 2 (Figs. 19 y 41). Este fenómeno puede tener al menos dos explicaciones no excluyentes: la pérdida de balance es una consecuencia inevitable e indeseada pero tolerable de las adaptaciones del ciclo locomotor que

permiten normalizar la velocidad de avance, o bien el incremento de la oscilación del cuerpo en sí mismo constituye un mecanismo compensatorio que mejora de alguna manera el desempeño funcional. La correcta comprensión de estos hallazgos requerirían analizar la interdependencia de la aceleración y el balance<sup>39</sup> y los mecanismos de conservación de energía durante la locomoción<sup>224, 22</sup>, aspectos de indudable interés pero que quedaban fuera de los objetivos de este trabajo. Dada su gran importancia sin embargo, intentamos inferir cómo se integraban las deficiencias y las compensaciones en la locomoción resultante tras la hemisección a partir de la relación entre la altura corporal y la función motora del MAD.

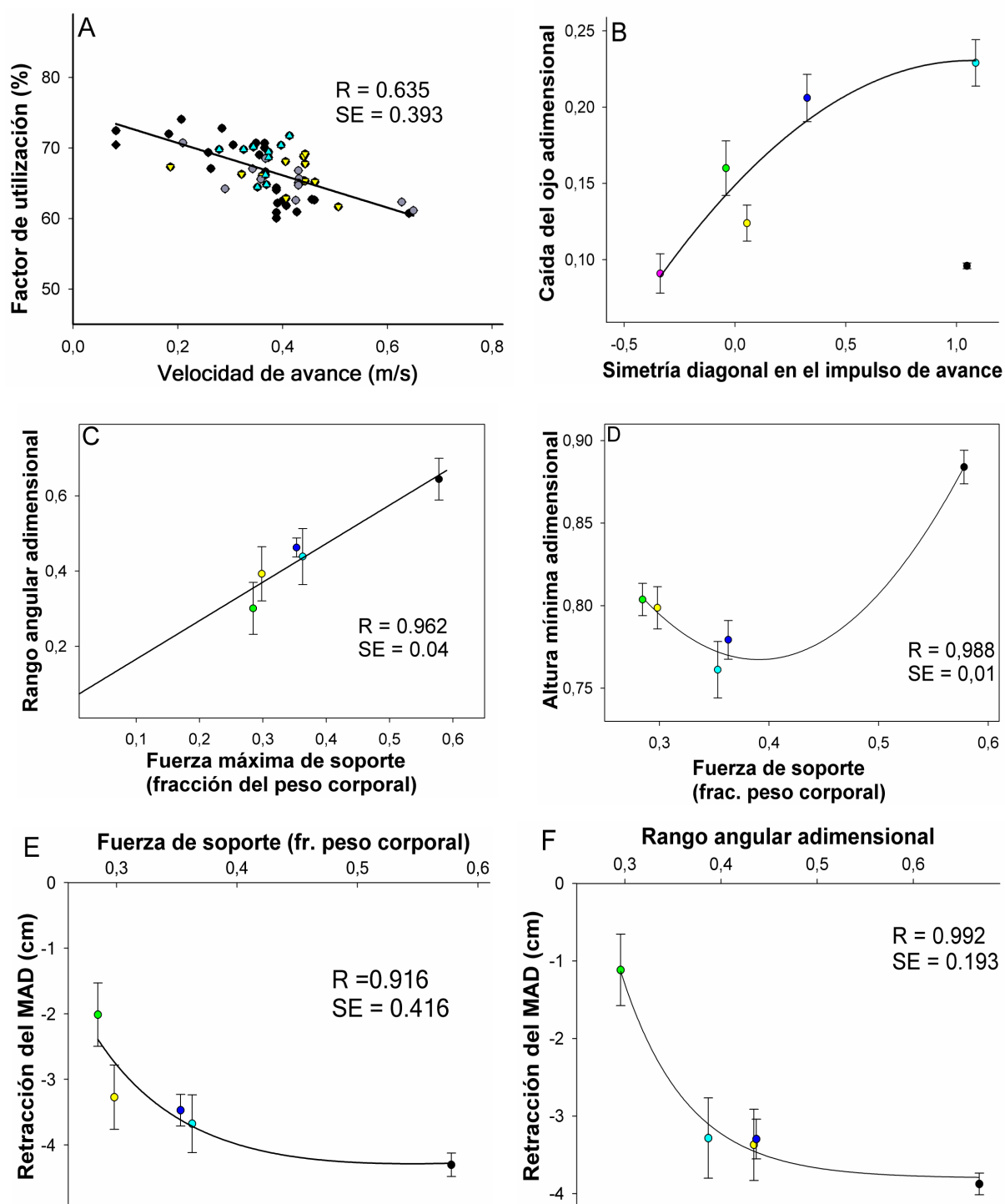
Inicialmente nos preguntamos si el incremento en la oscilación corporal representaría una compensación funcional en la cual el estilo locomotor adquiriría características de galope, sobre todo teniendo en cuenta que tras la lesión las extremidades anteriores y las posteriores también estaban más acopladas entre sí. Sin embargo, el análisis del factor de utilización en función de la velocidad de avance del animal (Fig. 56A) arrojó valores compatibles con marcha y no con galope, además de mostrar una relación lineal inversa con la velocidad, que también es característica del estilo de marcha<sup>2</sup>. Nos pareció entonces necesario profundizar en el desempeño motor de las extremidades anteriores en sí mismas y nos preguntamos porqué el cuerpo continúa cayendo después de que el MAI asiste al MAD en el tiempo de doble soporte anterior (Fig. 55). Cuando el MAI inicia el apoyo, la orientación hacia atrás de su vector tiene efecto neto de frenado, de manera que si produjera la fuerza vertical necesaria para detener la caída también generaría simultáneamente una fuerza de frenado muy grande, interrumpiendo así la locomoción y alterando la simetría de los impulsos de avance entre los pares diagonales. Dicho de otra manera, la pérdida parcial del balance puede ser un efecto secundario tolerable que permite la progresión de la locomoción con simetría en el impulso de avance entre pares diagonales, interpretación que se sustenta por la correlación que existió entre ambos parámetros (Fig. 56B). Otra posibilidad es que la caída del cuerpo sobre el MAD, aún siendo una consecuencia directa de la paresia de esta extremidad, al mismo tiempo contribuya a incrementar el pico de fuerza extensora desencadenando el reflejo de estiramiento del TB y facilitando el desarrollo de fuerza excéntrica. El incremento registrado en la flexión del MAD

al inicio del apoyo después de la lesión (Fig. 33A), junto con la correlación lineal directamente proporcional que existió entre la fuerza pico de soporte y el rango angular del codo (Fig. 56C), y la función cuadrática que relacionó la fuerza pico de soporte y la altura del hombro (Fig. 56D) apoyan este fenómeno, pero se necesitan estudios electrofisiológicos para obtener información concluyente.



Aunque la parábola representada en la Fig. 56D es algo especulativa puesto que solo un valor normal a la derecha del vértice, la cinética y la cinemática de la locomoción descrita en esta tesis claramente indica que en condiciones normales el TB hace trabajo positivo para elevar el cuerpo, y

esto ya no es posible después de la hemisección medular.



**Fig. 56. Integración de la locomoción normal y tras la hemisección medular.** **A)** Relación entre el factor de utilización de las extremidades y la velocidad de avance del animal. **B)** Altura mínima del ojo en relación con el impulso de avance. **C)** Rango articular medio del codo derecho con respecto de la fuerza máxima de soporte del MAD. **D)** Caída del hombro en función de la fuerza máxima de soporte del MAD. **E)** Punto posterior extremo en función de la fuerza máxima de soporte del MAD. **F)** Punto posterior extremo en función del rango articular del codo derecho. Las líneas corresponden a las funciones ajustadas. Los datos corresponden a las medias de 12 animales con hemisección completa en estado prelesión (puntos negros), y a los 10 (verde), 20 (amarillo), 45 (azul oscuro) y 120 (azul claro) DPL.

Para finalizar, vale la pena mencionar que tras la hemisección el desplazamiento hacia atrás del MAD durante el apoyo alcanza valores muy cercanos al normal, pese al escaso incremento de la fuerza de soporte (Fig. 56E) y la pérdida de extensión del codo (Fig. 56F), sugiriendo que el MAD en buena parte rota en el eje de avance, en vez de extenderse y proporcionar soporte corporal.

En resumen, el hallazgo más relevante fue la pérdida grave, precoz y persistente de más del 50 % de la fuerza extensora del codo durante el apoyo del miembro anterior ipsilateral (ANOVA  $p<0.01$ , posttest de Holm-Sidak  $p<0.05$ ), pero no del miembro posterior del mismo lado. Como consecuencia, los animales eran incapaces de soportar y elevar el cuerpo cuando la extremidad anterior estaba apoyada. También se observó pérdida crónica de la flexión de la muñeca durante la fase aérea (ANOVA  $p<0.01$ , posttest de Holm-Sidak  $p<0.05$ ), momento de mayor demanda funcional de los músculos flexores. A pesar de estos trastornos, los animales mostraban una locomoción muy efectiva, gracias a múltiples mecanismos compensatorios en la organización temporal y geométrica del ciclo de marcha. Los datos biomecánicos permitieron también marcar el límite entre periodo agudo, inmediatamente tras la hemisección y correspondiente al shock medular, y el periodo crónico, en el que la debilidad corporal general ya no era evidente.





## *DISCUSIÓN*

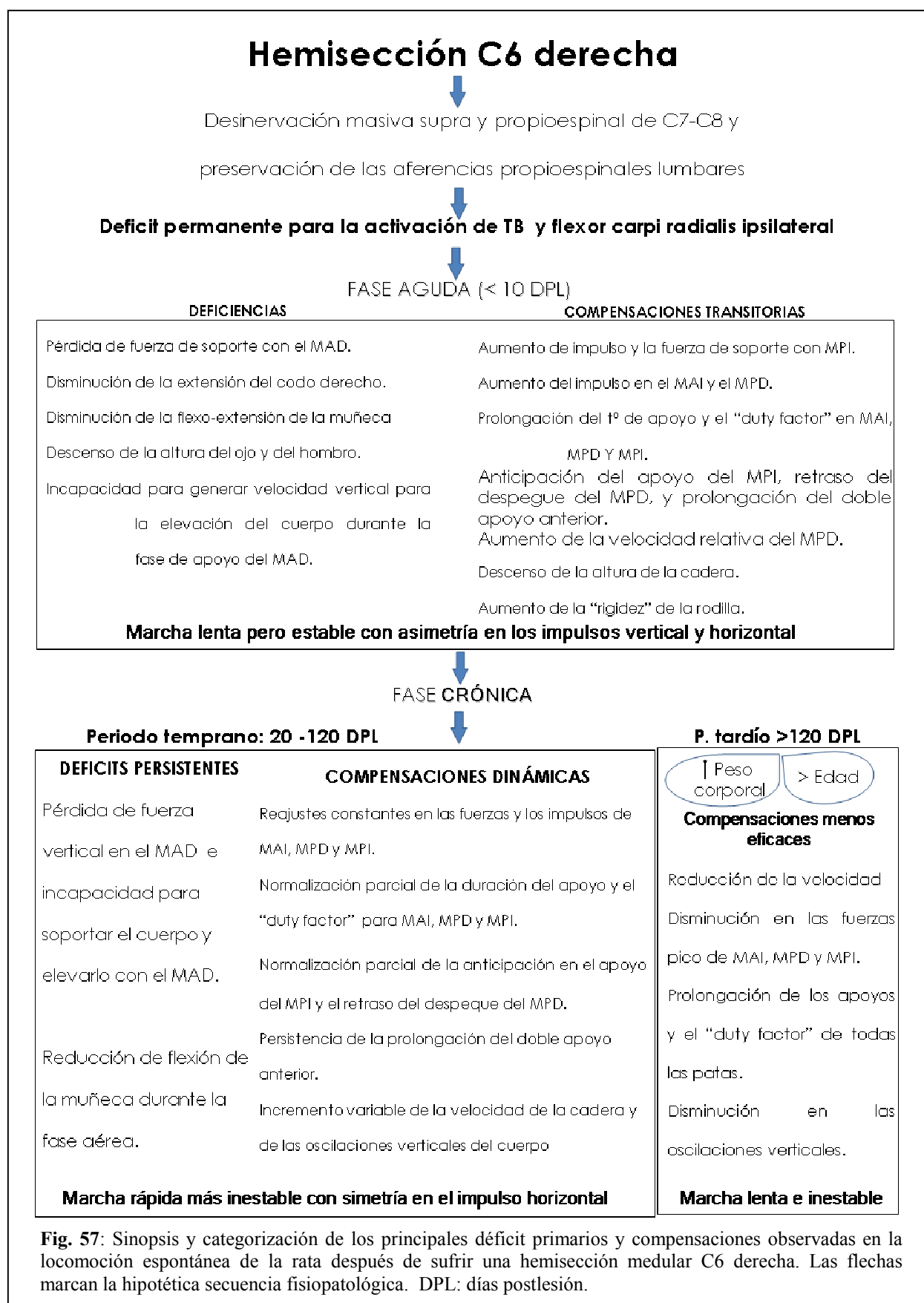


## 6. DISCUSIÓN

Este trabajo presenta una descripción biomecánica detallada de la locomoción espontánea de la rata con hemisección medular C6 derecha. Midiendo las fuerzas de reacción y utilizando análisis cinemático, se describen los déficit y las compensaciones que caracterizan la marcha en este modelo experimental, desde la fase aguda hasta la crónica tardía. La lesión produjo trastornos motores focales graves y permanentes en la pata anterior ipsilateral, atribuibles a la desinervación crónica de los segmentos (C7 y C8), inmediatamente caudales a la hemisección. Para conseguir un desplazamiento efectivo, los animales tuvieron que aumentar el uso de las otras tres extremidades y modificar la organización temporal del ciclo de marcha y el movimiento de todo el cuerpo, inmediatamente tras la lesión y hasta el final del seguimiento. Los datos obtenidos sobre las deficiencias primarias y los mecanismos compensadores desarrollados por los animales lesionados, permitirán utilizar este modelo en el futuro para evaluar estrategias de rehabilitación y de reparación neural encaminadas a mejorar la función del miembro anterior tras una lesión medular cervical.

Uno de los resultados más relevantes es que la extremidad anterior del lado lesionado (MAD) presentaba trastornos crónicos sin apenas recuperación, mientras que la extremidad posterior ipsilateral prácticamente no se afectaba desde el punto de vista motor y además incrementa su función desde la fase aguda postlesión. Este fenómeno sugiere que la lesión afecta de forma diferente los circuitos neurales inmediatamente infralesionales (C7-C8) y aquellos más alejados localizados en la región lumbar. Utilizamos de partida los datos de un estudio previo sobre la existencia y características topográficas del sistema propioespinal cervical premotoneuronal en la rata<sup>222</sup>, cuya axotomía en C6 sumada a la de los tractos descendentes del encéfalo causaba pérdida crónica de aferencias a C7/C8 y podría explicar la persistencia de la pérdida de fuerza extensora del MAD que hemos detectado. Por el contrario, la hemisección preservaría la conectividad propioespinal que llega al engrosamiento lumbar desde C7, C8 y los segmentos torácicos, lo que explicaría la buena función del MPD tras la lesión. Nuestros resultados permiten categorizar los cambios en el comportamiento motor como déficit primarios o compensaciones, además de

diferenciar entre fase aguda y crónica en función de las características del desempeño locomotor, según se resume en la Fig. 57.



Después de una lesión medular, los tractos axonales ascendentes y descendentes se interrumpen y ello acarrea deficiencias sensoriomotrices cuyas características y gravedad son variables en función de la extensión y localización del daño neural<sup>225, 226, 10, 227, 228, 215, 229, 24</sup>. A pesar del avance de las neurociencias, el papel de cada uno de los sistemas axonales que proyectan a la médula espinal no está del todo esclarecido, ni en condiciones de normalidad ni tras la lesión. Tampoco es sencillo establecer correlaciones entre las estructuras preservadas y la capacidad funcional residual tras una lesión, puesto que deficiencias y mecanismos compensatorios se presentan conjuntamente en la función motora residual. Existe además otro factor poco abordado y que dificulta el análisis de la función postlesión: a los trastornos motores producidos por la destrucción de los axones que descienden del encéfalo se suman los déficit asociados al daño de las neuronas de la médula espinal, incluyendo a las MNs, INs segmentarias e INs propioespinales. Se necesitan por ello estudios anatómicos, neurofisiológicos y funcionales cuidadosos que aborden desde una perspectiva integral la ejecución del movimiento.

#### 6.1 Deficiencias segmentarias, focales y permanentes después de la hemisección medular en C6.

En términos clínicos, el concepto de “focalidad neurológica” relaciona unos síntomas neurológicos concretos con el daño localizado en una región determinada del cerebro<sup>230</sup>. Sólo en algunas ocasiones este concepto se ha aplicado a la patología medular, pero puesto que en la médula espinal existe una distribución topográfica precisa de las columnas de MNs y las INs están organizadas metaméricamente, hablar de focalidad segmentaria espinal no carece de sentido. El ejemplo más claro lo constituye la paresia o parálisis de algunos músculos debida a muerte neuronal focal. Así, en lesiones cervicales incompletas humanas, la paresia de los músculos intrínsecos de la mano<sup>231</sup> o del aparato extensor del codo<sup>190</sup> se correlaciona con la muerte de MNs en los segmentos cervicales en los que ocurre el máximo daño tisular. De igual modo, se ha podido comprobar en ratas con contusión cervical o lumbar que el daño específico de determinados núcleos motores produce

deficiencias motoras segmentarias<sup>183</sup>. Sin embargo, el daño neuropatológico responsable de los déficit del miembro superior en las lesiones cervicales humanas comprende tanto muerte neuronal focal como desinervación de las neuronas que sobreviven cerca de la zona de lesión<sup>190</sup>. En este trabajo presentamos evidencias experimentales del segundo y menos obvio fenómeno: la desinervación focal de los segmentos cervicales inmediatamente inferiores a la lesión, de idéntica manera que se ha descrito en humanos<sup>190</sup>, causa paresia grave y permanente de sus miotomas. En nuestro caso, la desinervación de C7/C8 sería la responsable de la paresia de los extensores del codo y flexores de la muñeca, alteración que podría detectarse cuando los animales utilizaban activamente el miembro anterior para la locomoción.

Se escogió específicamente la hemisección derecha C6 porque deja intactos los axones supraespinales y propioespinales que inervan los núcleos motores de los flexo-extensores y rotadores del hombro y los flexores del codo<sup>182</sup> (Fig. 8 y 9), lo que garantiza la estabilidad mecánica del hombro para el soporte de peso y la capacidad de traslación caudal de la extremidad anterior durante la fase de apoyo, y también su traslación rostral durante la fase aérea. De este modo, las ratas podrían usar el miembro anterior ipsilateral a la lesión para la locomoción y las deficiencias en la extensión del codo y la flexo-extensión del carpo se harían evidentes y podrían ser cuantificadas.

El segmento C7 contiene aproximadamente el 60 % del total de MNs del TB y entre C7 y C8 suman el 90 % de las mismas. Los tres subnúcleos se entremezclan en C7, segmento que alberga alrededor del 90 % de las MNs de los FM y F lat y en torno al 56 % de las del FL, los dos últimos de los cuales recordemos que poseen las unidades motoras más grandes<sup>175</sup>. Gracias a los registros EMG sabemos que durante la marcha el FL se activa inmediatamente antes de que la pata anterior inicie el apoyo y que el F lat se activa durante toda la fase de apoyo<sup>176, 44, 232</sup>. Por todo lo anterior, se esperaba una importante pérdida de fuerza extensora en el codo ipsilateral a la hemisección, además de pérdida de flexión de la muñeca, pues el núcleo motor del músculo flexor carpi ulnaris se localiza casi completamente en C7<sup>226</sup>.

La locomoción espontánea sobre una superficie lisa no es una tarea demasiado exigente para la rata y, puesto que no le demanda la génesis de su máxima capacidad neuromotriz, probablemente hayamos subestimado la pérdida funcional. A pesar de ello, encontramos *deficiencias focales*,

*segmentarias, graves y crónicas*: focales porque que afectaron esencialmente al miembro anterior y específicamente a la extensión del codo -dependiente del músculo TB- y a la flexión de la muñeca -dependiente del flexor carpi ulnaris-; segmentarias porque los núcleos motores de ambos músculos están principalmente ubicados en C7, segmento que se encuentra inmediatamente caudal al epicentro lesional; graves porque la fuerza de soporte del miembro anterior ipsilateral se redujo más del 50 % y se perdió por completo la capacidad para elevar el cuerpo del animal con esta extremidad; y crónicas porque estos trastornos se mantuvieron a lo largo de los 6 meses de seguimiento postlesión, que representan una fracción importante del tiempo de vida de la rata (aproximadamente 36 meses). Estos hallazgos resultan muy sorprendentes, si se tiene en cuenta que la lesión preserva intacta toda una hemimédula y que se preservan en ambos lados los circuitos propioespinales responsables de la coordinación entre las cuatro extremidades en la marcha cuadrúpeda de la rata, que se localizan por debajo del sitio de lesión<sup>233, 234</sup> y a los que se les supone la misma plasticidad y capacidad de recuperación funcional que tienen los circuitos propioespinales lumbares después de una lesión medular<sup>235, 236, 237, 238</sup>.

Nuestros datos muestran que en condiciones de normalidad la fuerza extensora del MAD detiene la caída del tren anterior del animal y restaura su altura inicial en la segunda mitad del apoyo (Fig. 29 y 30), pero tras la hemisección C6 esta capacidad se pierde, de manera que el MAD claudica y la caída del cuerpo no se detiene, a pesar de que el hombro se coloca un poco más elevado y de que el MPI y el MAI anticipan su apoyo para compensar la deficiencia (Fig. 22 y 45). Esta deficiencia focal tiene sin embargo repercusiones globales sobre las fuerzas de las otras extremidades y los parámetros temporales del ciclo de marcha, además de propiciar la caída relativa del cuerpo en los momentos en que el MAD recibe su carga (Fig. 55).

La hemisección C6 derecha desinerva los segmentos medulares que contienen las MNs del TB del mismo lado, lo cual lleva a la pérdida de fuerza extensora del MAD. En los humanos, el TB participa en múltiples movimientos voluntarios y reflejos como el alcance y la pinza<sup>184</sup>, el soporte de peso corporal durante el ganeo<sup>239</sup> o la respuesta a caídas hacia adelante<sup>159</sup>. Este variado repertorio es posible gracias a que cada uno de sus tres fascículos funciona como un

compartimento neuromuscular independiente, que posee un tipo, número y tamaño de unidades motoras y fibras musculares propio<sup>175</sup>. Mediante trazado neural retrógrado comprobamos que existía una pequeña pérdida de MNs del TB, que en ningún caso podía explicar la grave pérdida de fuerza extensora encontrada y que hubiera podido compensarse mediante arborización axonal reactiva en los nervios periféricos<sup>240</sup>. Además, la muerte de MNs no era significativa en el F lat<sup>222</sup>, poseedor de las unidades motoras más grandes y donde una pérdida pequeña en número supondría un déficit desproporcionadamente grande de fuerza extensora en el codo.

## 6.2 Compensaciones globales y dinámicas que optimizan la función motriz residual.

En consonancia con lo que se había observado en estudios previos en otros modelos de LME incompleta en mamíferos cuadrúpedos<sup>225, 226, 22, 183</sup>, las ratas con hemisección C6 derecha desarrollaron una serie de compensaciones con el resto del cuerpo –los dos miembros posteriores y el anterior contralateral- encaminadas a mantener el equilibrio y mejorar globalmente la locomoción. Aunque varios de mecanismos compensatorios descritos en este trabajo son novedosos, queremos resaltar un aspecto de las mismas poco abordado y de gran importancia, como es el hecho de que tras la hemisección C6 eran muy dinámicas y no se consolidaban. Por el contrario, iban modificándose constantemente a lo largo del seguimiento postlesión, información no solo de interés fisiológico sino también de gran importancia para valorar correctamente el impacto funcional de posibles tratamientos reparativos. Desconocemos el porqué de estos ajustes continuos. Probablemente su explicación no es única y, si bien su abordaje excede los límites de este trabajo, es posible que el pequeño pero continuo aumento en el peso corporal postlesión tenga un papel en este fenómeno, demandando continuos ajustes en ciclo de marcha para mantener la estabilidad.

En la Fig. 57 concluimos que en la fase aguda los animales con hemisección C6 muestran una locomoción lenta aunque relativamente balanceada, mientras que en la fase crónica se desplazan más rápidamente, pero con un incremento de la inestabilidad corporal. Esta conclusión parece contradictoria a primera vista y merece analizarse con más detenimiento. Durante los días



inmediatamente posteriores a la lesión, las ratas mostraban debilidad muscular global, en buena parte debida a los cambios transitorios que tienen lugar durante el shock medular<sup>212, 241, 242</sup> y que determinan una condición neurológica peor en el momento agudo que en los estadios crónicos. Si hubiéramos analizado el equilibrio y balance estáticos de estos animales mediante una plataforma inclinable<sup>243</sup>, probablemente nuestra conclusión sería que inmediatamente tras la lesión el balance era mucho peor que en fase la crónica. Sin embargo, puesto que la tarea que íbamos a analizar era dinámica y no estática, definimos balance como la capacidad para mantener elevado el cuerpo durante el apoyo de las extremidades<sup>223</sup>. Así, tendríamos mejor balance cuanto menos descendiera el cuerpo durante el apoyo con respecto de su altura inicial. En la fase aguda, caracterizada por debilidad muscular intensa y generalizada, el balance era mejor simplemente porque MAI, MPI y MPD asistían continuamente al MAD en el soporte de peso, anticipando su apoyo o retrasando su despegue, lo que implicaba aumentar la duración de sus apoyos y su factor de utilización, con la consecuente reducción en la velocidad de avance. Además, los animales se desplazaban a una altura del suelo menor, que ayudaba a minimizar las oscilaciones en el plano vertical mientras apoyaba el MAD. En el periodo crónico, MAI, MPI y MPD debían continuar asistiendo al MAD, pero los animales, para incrementar la velocidad, optaban por reducir las duraciones de sus apoyos. Como consecuencia, la caída del tren anterior durante el apoyo del MAD aumentaba progresivamente, o lo que es lo mismo, el balance empeoraba. Además, en el periodo crónico los animales se desplazaban con el cuerpo más elevado que en condiciones de normalidad, lo que contribuía a aumentar las oscilaciones de altura durante el ciclo.

Por otra parte, la disminución de la estabilidad dinámica era una consecuencia no deseada al incrementarse la velocidad de avance a pesar de la falta de fuerza extensora del MAD. Sin embargo, es posible que los animales lesionados sacaran cierta ventaja del incremento de la oscilación corporal. En la locomoción normal a velocidades intermedias, los cambios de altura del centro de masas permiten la interconversión de energía potencial gravitacional en cinética dentro de cada ciclo, con lo cual se reduce en torno al 70 % el coste energético del desplazamiento<sup>224</sup>. Este mecanismo no se ha constatado durante el trote en ratas Long-Evans sanas, aunque sí parcialmente en la misma especie tras una hemisección en C3<sup>22</sup>. No podemos saber hasta qué punto

opera en condiciones de normalidad en nuestras ratas Wistar ni cómo se afecta tras la lesión, porque no hemos analizado el desplazamiento del centro de masas del animal completo. Asumimos, como en trabajos previos<sup>10</sup>, que la velocidad del ojo representa la velocidad del centro de masas y fue ésta la que se cuantificó tanto en sentido vertical como horizontal. Las curvas de velocidad horizontal y vertical del ojo oscilan dos veces durante el ciclo en condiciones de normalidad, estando en desfase la una con respecto de la otra, lo que indicaría un alto grado de transformación energética potencial en cinética y de ahorro en nuestras ratas durante la marcha espontánea. Después de la hemisección, la amplitud de las oscilaciones del cuerpo aumentó, pero en buena parte del ciclo también se perdió el desfase entre la velocidad vertical y la horizontal y por consiguiente la transformación energética, con lo que es de suponer que el gasto energético de la locomoción también se incrementó.

Otra posibilidad interesante es que el aumento de la caída del cuerpo sobre el MAD le permitiera al animal incrementar la fuerza extensora del codo al desencadenar el reflejo de estiramiento del TB al inicio de la fase de apoyo del MAD. De hecho, el progresivo incremento de las oscilaciones verticales del tren anterior desde la fase aguda hasta la crónica podría explicar el pequeño incremento de la fuerza de soporte del MAD durante los meses de seguimiento postlesión. Este hipotético efecto sería ejecutado principalmente por el F lat, especializado en llevar a cabo movimientos fásicos, rápidos y potentes<sup>175</sup>, que normalmente presenta un patrón bifásico de estiramiento y acortamiento activo durante la fase de apoyo<sup>49</sup>. Tras la lesión, este mecanismo reflejo permitiría ganar algo de fuerza en la parte inicial del apoyo, pero que en ningún caso podría generar la fuerza suficiente para elevar el cuerpo en la segunda mitad del apoyo, momento en el que se requeriría la activación conjunta del FL y del F lat del TB mediante circuitos bajo control supraespinal. Así, la pequeña ganancia de fuerza extensora del MAD probablemente responde a un fenómeno de compensación neuromuscular periférica. Para esclarecer la naturaleza de estos mecanismos en situación normal y tras lesiones medulares, son imprescindibles estudios que combinen el análisis cinético y cinemático con la electromiografía.

### 6.3 Origen neural de las alteraciones locomotrices detectadas en el miembro anterior de la rata tras la hemisección.

Mediante trazado retrógrado del núcleo motor del tríceps braquial pudimos comprobar que la pérdida de MNs fue mínima, no significativa en el primer experimento y significativa pero pequeña en el segundo. Estudios neuroanatómicos con el mismo modelo de hemisección C6 en la rata adulta<sup>222</sup> proporcionaron datos preliminares sobre la pérdida sináptica crónica en los segmentos C7 y C8, confirmando su desinervación tras la axotomía de los diferentes tractos en C6. Entre uno y tres meses después de la hemisección, la inmunorreactividad para sinaptofisina se reducía significativamente 1 mm por encima y por debajo del epicentro de la lesión en comparación con el lado contralateral no lesionado o con controles normales, normalizándose rostralmente a partir de los 2 mm y caudalmente a partir de los 4 mm. La densidad integrada de fluorescencia para sinaptofisina se mantenía crónicamente descendida en los segmentos espinales adyacentes a la lesión y particularmente en C7, o lo que es lo mismo, tras desinervación masiva de los axones supraespinales y propioespinales la cantidad total de sinapsis en C7 se reduce, quedando menos sistemas axonales que inicien fenómenos de sinaptogénesis reactiva y permitan la recuperación funcional en dichos segmentos. La sustancia gris inmediatamente rostral y caudal al epicentro de la lesión se encontraba atrófica al procesar el tejido mediante H&E, a pesar de que muchas neuronas del asta anterior tenían aspecto normal. Asimismo, la sustancia blanca perilesional mostraba signos de degeneración Walleriana<sup>222</sup>. Además, mediante trazado neural retrógrado en ratas normales, se comprobó la existencia de una gran cantidad de neuronas propioespinales que proyectan a C7 desde los segmentos cervicales rostrales. Restringiéndonos a las láminas VII y VIII de los segmentos C2 a C5, se comprobó que alrededor de 6000 neuronas propioespinales proyectaban a C7<sup>222</sup>, indicando que el sistema propioespinal cervical de la rata tiene la relevancia anatómica suficiente como para que su axotomía contribuya a la producción y/o cronificación de las deficiencias motoras focales en el miembro anterior ipsilateral a la hemisección.

El sustrato neural del sistema premotoneuronal propioespinal cervical (Fig. 6A), como se ha descrito ya en la sección 2.2.2, se conoce bien en gatos y monos<sup>122, 148, 152</sup>, e incluye diferentes tipos

de neuronas localizadas en las láminas VII y VIII de los segmentos C2 a C5, cuyos axones descienden por el funículo ventrolateral y finalmente proyectan sobre las INs y las MNs de los segmentos C6 a T1, responsables de la innervación de la musculatura del miembro anterior. A su vez, los tractos TCE, rubroespinal, reticuloespinal y tectoespinal proyectan sobre ellas y juegan un importante papel en el control voluntario de la pata o mano. Sin embargo, en la rata la estimulación evocada desde la corteza de las MNs de la pata anterior está mediada por el tracto reticuloespinal o por las INs segmentarias<sup>122</sup>. Así, aunque se han identificado electrofisiológicamente las neuronas propioespinales C3/C4, no parecen participar en el control voluntario de la pata anterior y su papel es aún desconocido. Nuestros hallazgos funcionales, interpretados desde la perspectiva de estos datos anatómicos, sugieren que este sistema puede resultar importante para la generación de fuerza o para la ejecución de aquellas tareas en las que el miembro anterior depende en menor grado del control supraespinal, como es el caso de la marcha espontánea sin obstáculos. Ni los experimentos de este trabajo ni los estudios anatómicos citados se diseñaron para determinar el papel específico que tienen para el miembro anterior los distintos tractos axonales en la locomoción espontánea, pero analizados conjuntamente arrojan algunas pistas sobre los posibles mecanismos responsables de las deficiencias locomotoras tras la hemisección C6.

Nuestra hipótesis es que posiblemente sea la interrupción conjunta de los sistemas propioespinales y supraespinales que actúan sobre las neuronas de los segmentos C7 y C8 lo que determine tanto la gravedad como la cronicidad de la disfunción del MAD, pues la circuitería propioespinal funciona en paralelo y como relevo de los tractos supraespinales descendentes. Al interrumpirse simultáneamente las aferencias supraespinales y propioespinales a los segmentos del epicentro de la lesión, se limitaría la posibilidad de que ocurran cambios plásticos que lleven a recuperación funcional. En situación semejante se encontraría el circuito propioespinal lumbar formado por INs cortas intersegmentarias sobre las que convergen, como en el engrosamiento cervical, aferencias sensoriales y axones supraespinales descendentes. Si a gatos espinalizados crónicos se les lesionan estas vías propioespinales muy cerca de los núcleos motores lumbares, los animales pierden definitivamente la capacidad de utilizar los miembros posteriores para la locomoción inducida mediante tapiz rodante<sup>244</sup>. A pesar de todo, merece la pena recalcar que si se

daña únicamente el sistema premotoneuronal propioespinal cervical la locomoción no debería alterarse permanentemente, sino que otros tractos probablemente asumirán sus funciones, tal como sucede frecuentemente tras lesiones medulares que dañan selectivamente tractos concretos a nivel cervical<sup>245, 246, 247</sup>. Excluimos como causantes de los déficit locomotrices al TCE dorsal y la porción más medial del tracto ventromedial, porque se preservaban íntegramente en la mitad de los animales del experimento 1 y sin embargo éstos seguían exhibiendo pérdida de fuerza grave y permanente, de intensidad similar a los animales con hemisección completa. Además, otros trabajos sólo han encontrado pérdidas en la fuerza vertical sutiles y transitorias después del daño en el TCE en ratas<sup>129</sup>. Todo lo anterior apunta a que los déficit permanentes deben ser causados por coexistencia de daño del sistema premotoneuronal propioespinal cervical y de otros sistemas axonales descendentes que se ubican en la parte lateral de la médula, tales como el tracto rubroespinal y ciertos componentes de los tractos reticuloespinal y vestibuloespinal. Estos tres últimos sistemas están muy activos durante la marcha sobre una superficie lisa en gatos<sup>248, 249</sup>. La actividad de las neuronas vestibuloespinales se correlaciona estrechamente con la del TB y los extensores del miembro posterior durante la fase de apoyo, mientras que las neuronas reticuloespinales y rubroespinales se activan conjuntamente tanto con los extensores como con los flexores.

En la rata, una lesión unilateral de los tractos ventrolaterales en C3 causa reducción transitoria (~25 %) de la fuerza extensora del miembro anterior ipsilateral durante la locomoción, que se recupera a la semana y media de la cirugía<sup>246</sup>. Sin embargo, las lesiones unilaterales del tracto rubroespinal o de los cordones posteriores producen deficiencias bilaterales más persistentes, reduciéndose la fuerza de los miembros anteriores en torno a un 15 % a las 6 semanas postlesión<sup>245</sup>. Las ratas con hemisección completa C4-C5 muestran también deficiencias cinemáticas en la marcha sobre agua poco profunda sin apenas recuperación a los 28 días postlesión<sup>24</sup>. Los trabajos anteriores no pueden compararse directamente porque se realizaron en distintas metámeras y el daño axonal resultante tiene diferente significado funcional al eliminar aferencias a diferentes MNs, INs segmentarias y neuronas propioespinales. Hecha esta salvedad y considerados en conjunto, todos ellos apoyan nuestra hipótesis de que es el daño conjunto de los sistemas propioespinal y de otros

tractos axonales laterales es el responsable de las deficiencias motoras graves y permanentes en el miembro anterior ipsilateral a la hemisección en C6.

#### 6.4 Naturaleza de los mecanismos de recuperación y readaptación funcional tras una lesión medular.

En aras de facilitar el diagnóstico, la comprensión etiopatológica y el manejo terapéutico, es habitual en la práctica médica que el curso evolutivo de las enfermedades sea dividido en fases. Así, los síntomas y signos que se constatan en las primeras horas o días tras una lesión medular definen la fase aguda, los hallazgos que aparecen después de varias semanas caracterizan la fase subaguda y la capacidad funcional residual “estable” que los pacientes alcanzan tras varios meses define el periodo crónico. La duración de estas fases varía de unos enfermos a otros y los límites entre ellas no están nítidamente definidos. Hay sin embargo consenso sobre la existencia de un hecho crucial en la fase aguda, el *shock espinal* o pérdida inmediata de los reflejos por debajo de la lesión, fenómeno conocido y descrito desde antiguo –Whytt, 1750; Hall, 1841; Brown-Séquard, 1846; Sherrington, 1898- aunque de significado, etiología y duración no del todo aclaradas<sup>206, 241</sup>. Para algunos clínicos, el shock espinal se extiende desde el momento de la lesión hasta que reaparece el reflejo bulbocavernoso y otros reflejos polisinápticos, lo que sucede de varias horas a varios días tras la lesión. Para otros, finaliza cuando reaparecen los reflejos osteotendinosos, entre 4 y 6 semanas tras la misma. Los estudios urodinámicos han puesto de relieve además que el reflejo del detrusor puede reaparecer incluso varios meses después. Sea cual sea la duración del shock, implica incapacidad sensoriomotora que posteriormente se recupera en parte.

Característicamente, la hipo o arreflexia infralesional se acompaña de parálisis o paresia flácida y pérdida del movimiento voluntario por desconexión de las neuronas espinales de los impulsos centrales<sup>250</sup>. Trabajos clínicos recientes han demostrado que casi desde el inicio del shock la excitabilidad de los axones periféricos se deteriora significativamente en ausencia de daño de los mismos<sup>251, 242</sup>, para posteriormente recuperarse coincidiendo con la aparición de la hiperreflexia

infralésional, lo que añade complejidad a la interpretación del shock espinal y su resolución. La ausencia de correlación entre el grado de recuperación de la excitabilidad axonal periférica y la cantidad de fuerza muscular voluntaria presente por debajo de la lesión apunta al daño espinal neuronal y/o axonal como principal responsable de la parálisis<sup>241, 242</sup>. Y si la consecuencia inmediata de la LME es la interrupción brusca de los estímulos supraespinales y la hiperpolarización y el aumento de la inhibición de las neuronas espinales afectadas, la salida del shock marca el momento en que la motricidad, sea refleja, automática o voluntaria, puede expresarse gracias a que las neuronas desinervadas incrementan su tasa de respuesta y la eficacia de los receptores sinápticos, lo que se conoce como hipersensibilidad postdenervación<sup>241</sup>.

Los animales del experimento 2 mostraban indicios de encontrarse en fase de shock medular hasta aproximadamente los 10 DPL, pues constatamos a los 5DPL una pérdida generalizada de la fuerza de soporte en los dos miembros anteriores y en el miembro posterior ipsilateral que se normalizaban a los 10 DPL en MAI y MPD, así como un deterioro en la propulsión y el frenado entre los 5 y los 10 DPL en el MPD que después se normalizaba. La organización del ciclo locomotor, aún a pesar de la gran debilidad muscular, se readaptó ya desde los 5 DPL, como corrobora la prolongación marcada de los apoyos, el factor de utilización y el ciclo en las cuatro extremidades. Por consiguiente, en nuestro modelo de lesión incompleta el shock parece haberse manifestado por debilidad muscular pero manteniendo la posibilidad de coordinar correctamente los circuitos infralésionales que participan en la locomoción, excepto para el MAD que como hemos dicho mostró una afectación grave y persistente. El cambio de comportamiento de la velocidad media de avance en los distintos ensayos locomotrices a los 5 y 10 DPL en los animales del segundo experimento muestra un punto de inflexión concordante con la salida del shock medular: en el primer ensayo de los 5 DPL la velocidad se había reducido más del 50 % y no pudo recuperarse en los otros cuatro ensayos del mismo día. En el primer ensayo a los 10 DPL la pérdida era aún del 45 % pero, al igual que en el primer experimento, se fue recuperando a lo largo de los sucesivos ensayos hasta alcanzar en el quinto valores prelesión.

Un aspecto de importancia capital en el manejo de los pacientes con LME es poder establecer rápidamente y con certeza el nivel de independencia funcional esperado, de modo que las

metas rehabilitadoras sean realistas y puedan completarse ajustadamente en el tiempo. El mejor marcador pronóstico en este sentido sigue siendo clínico: el grado de cambio en la exploración neurológica siguiendo los estándares de la escala ASIA una vez que el paciente ha salido del shock medular con respecto a la exploración inicial marca las expectativas de recuperación y/o readaptación funcional<sup>212</sup>. A partir del primer mes y a lo largo del primer año tienen lugar los fenómenos de arborización axonal y de los somas neuronales espinales<sup>241</sup>. La mejoría funcional se sustentaría entonces sobre la recuperación derivada del tejido medular no dañado pero inicialmente no funcional y sobre la readaptación derivada del tejido sano, responsable de todas las compensaciones comportamentales que mejoran el desempeño final.

Como se ha descrito durante el shock, en las fases subaguda y crónica también existen alteraciones en la excitabilidad periférica superpuestas<sup>242, 251, 252</sup>, cuya prevención o abordaje terapéutico podría permitir objetivos rehabilitadores más ambiciosos y un mejor pronóstico funcional final, especialmente en pacientes incompletos.

## 6.5 Algunas consideraciones metodológicas.

Si bien la descripción de la locomoción espontánea de la rata con hemisección cervical que aporta este trabajo es minuciosa y detallada gracias a los instrumentos utilizados para su estudio, ni el análisis cinemático ni el de las fuerzas de reacción están exentos de sesgo. A pesar de nuestro mejor esfuerzo por optimizar los sistemas de medición y el procesamiento de los datos, todavía existen aspectos mejorables en este sentido.

Los dos miembros anteriores de la rata apoyan muy cerca el uno del otro en condiciones de normalidad, distancia que disminuye aún más después de una hemisección y complica la adquisición de los registros de fuerza aislada, siendo necesario colocar ambas plataformas separadas unos pocos milímetros para tomar el registro de las fuerzas de las extremidades anteriores muy cerca del borde. Asumimos que las medidas adquiridas en el borde de las plataformas dinamométricas son igual de fiables que las del centro de las mismas y, aunque el equipo utilizado es de muy alta tecnología, no podemos asegurar con plena certeza que la



sensibilidad sea exactamente igual en esta localización. No obstante, al tener la extremidad del lado no lesionado como una de las situaciones comparativas, resultó clara la especificidad de los trastornos detectados. Además, ubicamos oblicuamente y por encima del pasillo locomotor una de las cámaras, nos aseguramos que se analizaban sólo los registros en los que cada pata se apoyaba aisladamente y completa sobre una única plataforma. Más allá de estos necesarios detalles metodológicos en la adquisición de los datos, es imprescindible señalar que no es sinónimo fuerza extensora del miembro anterior -la que hemos medido y descompuesto en sus tres componentes cartesianos- con fuerza extensora del TB. Futuros trabajos que incluyan procedimientos de dinámica inversa permitirán conocer la contribución relativa del TB a la fuerza extensora del miembro anterior y sus modificaciones en condiciones de lesión. Asimismo, para esclarecer la contribución de cada fascículo del TB y el origen espinal o supraespinal de los comandos que los activan, deberán utilizarse además técnicas electrofisiológicas.

Los datos de las variables cinemáticas se construyeron sobre el rastreo de los puntos marcados en la piel, que en las ratas está especialmente poco adherida a planos profundos en algunos puntos como el codo o la rodilla. Antes de cada registro, se afeitaba cuidadosamente el cuerpo de los animales, de modo que se podían palpar bien los límites óseos. Se les inmovilizaba para mantener mejor las referencias anatómicas y se tatuaban primero los puntos proximales y distales de cada extremidad –muñeca y hombro y tobillo y cadera- y a partir de ellos se localizaban los puntos de rodilla y codo utilizando las dimensiones morfométricas conocidas de las extremidades de la rata Wistar<sup>253</sup>. Las cámaras ortogonales a los dos hemicuerpos adquieren imágenes bidimensionales de las extremidades en movimiento, cuyas articulaciones son tridimensionales, y además de desplazarse en el plano filmado, también experimentan cierto grado de rotación. Además, los puntos deben tatuarse siempre antes de cada registro, pudiendo también haber un sesgo asociado a la reubicación sucesiva de los mismos.

A pesar de la similitud de las goniometrías de nuestro trabajo con las obtenidas por otros autores mediante cinerradiografía<sup>177, 178</sup>, y de que convertimos las variables más problemáticas en adimensionales, no podemos descartar cierto sesgo en las goniometrías de codo y rodilla, cuya medición se mejoraría utilizando algoritmos matemáticos de extrapolación. Como en trabajos

anteriores, asumimos que el desplazamiento del ojo representa el del centro de masas. Sin embargo, no podemos asegurar que ambas curvas sean idénticas y superponibles, pues siendo iguales podrían mostrar cierto desfase o incluso tener la del ojo una curva superpuesta debido al movimiento de la cabeza y el cuello. Esta aparente debilidad nos resultó de utilidad porque la lesión afectaba sobre todo al MAD y el ojo representaba mejor que el centro de masas los cambios del tren anterior. Sin embargo, estudiar los cambios en la posición del centro de masas será de gran utilidad para aclarar las oscilaciones corporales detectadas después de la hemisección.

Los trazados retrógrados de las MNs del TB permitieron comprobar en ambos experimentos que la pérdida de fuerza hallada en el MAD se debía casi exclusivamente a desinervación, a pesar de que la técnica de aplicación del marcador no fue la misma. La extensión del daño medular se estudió utilizando técnicas de histología convencional en sentido transversal y vertical para estimar el volumen lesional. La cuantificación de la superficie preservada de sustancia gris y blanca informa muy globalmente de la cantidad de INs segmentarias y de tractos respetados respectivamente, no permite discriminar con exactitud entre los distintos tractos descendentes supraespinales y sólo permite especular sobre las causas neurales de las deficiencias funcionales.

Otra tesis doctoral realizada simultáneamente en el laboratorio con el mismo modelo de hemisección<sup>222</sup> confirmó la pérdida de sinapsis debida a desinervación y constató la existencia de neuronas premotoneuronales propioespinales C2-C5 que proyectan a C7 y C8 en la rata sana. Para completar la descripción anatómica de este sistema neuromuscular, después de la hemisección C6 deberán trazarse anterógradamente los axones propioespinales cervicales y estudiarse mediante histología convencional e histoquímica los fascículos del músculo TB por separado.

## 6.6 Utilidad de los hallazgos en la lesión medular humana y perspectivas.

Algunas evidencias sugieren que el sistema propioespinal cervical premotoneuronal contribuye a la recuperación de las deficiencias motrices en el miembro anterior después de lesiones del TCE y otros tractos supraespinales descendentes en monos y gatos<sup>247, 254</sup>. Se ha comprobado también que dicho sistema tiene en el humano un papel relevante, gracias al estudio de las deficiencias en la

función del brazo y la mano debidas a hemisección medular en la unión C6 y C7, que interrumpe las proyecciones propioespinales desde C3-C4 sobre las MNs del tríceps braquial<sup>208</sup>. Se ha comprobado asimismo que los miembros anteriores de ratas con contusión en C7 manifiestan alteraciones cinemáticas crónicas atribuibles a la muerte de MNs del TB<sup>183</sup>. Nuestros resultados añaden a los trabajos anteriores algunos datos que ayudan a entender la naturaleza de la parálisis de los músculos de los miembros anteriores tras la lesión medular cervical<sup>190</sup>. Se ha comprobado en animales experimentales que la pérdida de fuerza de los miembros anteriores es desproporcionadamente mayor que en los posteriores<sup>215,24</sup>, dato ya conocido en lesiones cervicales incompletas humanas<sup>255,256</sup>. La comprensión correcta de este fenómeno permitirá un mejor conocimiento de las contribuciones de la circuitería supraespinal, espinal y periférica a la ejecución y control motor del brazo en condiciones de normalidad y después de una lesión medular cervical y previsiblemente permitirá diseñar estrategias de recuperación y readaptación funcional más ajustadas.

Finalmente, nuestros resultados ponen de relieve la necesidad de utilizar, junto con los estudios anatómicos, métodos de análisis del comportamiento motor detallados y cuidadosos como se ha sugerido ya en lesiones torácicas<sup>10, 11</sup>, que tras lesiones medulares incompletas permitan diferenciar recuperación real de compensaciones comportamentales que mejoran la función. De este modo se podrá evaluar correctamente el impacto de las estrategias encaminadas a promover la plasticidad y la reparación neural tras las lesiones.



## CONCLUSIONES



## **7. CONCLUSIONES**

- 1) La hemisección medular C6 produce pérdida de fuerza extensora en el miembro anterior ipsilateral, que se traduce en disminución de la extensión del codo e incapacidad para el soporte durante la fase de apoyo del ciclo locomotor. También limita la flexión de la muñeca durante la fase aérea, siendo ambas deficiencias primarias, focales y permanentes.
- 2) Estos trastornos alteran la dinámica de la locomoción, obligando a los animales a poner en marcha diversas compensaciones para lograr desplazamiento efectivo.
- 3) La mayoría de compensaciones pueden entenderse en términos de control postural de las extremidades y de mantenimiento de la velocidad y el balance corporal.
- 4) A diferencia de la extremidad anterior, el miembro posterior ipsilateral apenas se afecta tras la hemisección durante la tarea evaluada. Esto implica que la lesión afecta de forma diferente a los segmentos medulares inmediatamente infralesionales (C7-C8) y a los que están más alejados, localizados en la región lumbar.
- 5) Los signos de afectación neuromotriz a los 5 y 10 días postlesión marcan la fase aguda y muestran un punto de inflexión concordante con la salida del shock medular.





## *BIBLIOGRAFÍA*



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. ALEXANDER R McN (1992). Exploring biomechanics. Animals in motion. Scientific American Library. New York.
2. ALEXANDER R McN (2002). Principles of Animal Locomotion. Princeton University Press, 2<sup>nd</sup> printing, Oxford.
3. VINAY L, BROCARD F, CLARAC F (2000). Differential maturation of motoneurons innervating ankle flexor and extensor muscles in the neonatal rat. *Eur J Neurosci* 12:: 4562 - 4566.
4. AGUILAR GUTIÉRREZ M. (2000). Biomecánica: la física y la fisiología. Ed. CSIC, Madrid.
5. LORD SE, ROCHESTER L (2005). Measurement of community ambulation after stroke: current status and future developments. *Stroke* 36:1457-61..
6. COOK CE, HEGEDUS E, PIETROBON R, GOODE A (2007). A pragmatic neurological screen for patients with suspected cord compressive myelopathy. *Phys Ther* 87:1233-42.
7. LEE KM, GHUNG CY, KWON DG, HAN HS, CHOI IH, PARKS MS (2011). Reliability of physical examination in the measurements of hip flexion contracture correlation with gait parameters in cerebral palsy. *J Bone Joint Surg Am* ,93:150-8.
8. JACKSON AB, CARNEL CT, DITUNNO JF, SCHMIDT READ M, BONINGER ML, SCHMELER MR, WILLIAMS SR, DONOVAN WH (2008). From the 2006 NIDRR Measures Meeting. Outcome Measures for Gait and Ambulation in the Spinal Cord Injury Population. *J Spinal Cord Med* 31:487-99.
9. KEEGAN KG, WILSON DA, WILSON DJ (1998). Evaluation of mild lameness in horse trotting on treadmill by clinicians and interns or residents and correlation of their assessments with kinematic gait analysis. *Am J Vet Res* 59:1370-77.
10. COLLAZOS-CASTRO J, LÓPEZ-DOLADO E, NIETO-SAMPEDRO, M (2006). Locomotor Deficits and Adaptive Mechanisms after Thoracic Spinal Cord Contusion in the Adult Rat. *J Neurotrauma* (23):1 – 17.
11. ALLUIN O, KARIMI-ABDOLREZAEE S, DELIVET-MONGRAIN H, LEBLOND H, FEHLINGS MG, ROSSIGNOL S (2011). Kinematic Study of Locomotor Recovery after Spinal Cord Clip Compression Injury in Rats. *J Neurotrauma* 28:1963–1981.
12. ORLOVSKY G, DELIAGINA T, GRILLNER S (1999). Neuronal Control of Locomotion. Oxford University Press, New York.
13. ROSSIGNOL S, BARRIÈRE G, ALLUIN O, FRIGON A (2009). Re-expression of Locomotor function after Partial Spinal Cord Injury. *Physiology* 24:127-139.
14. EBERHART HD, INMAN VT, BRESLER B (1954). *The principle elements in human locomotion*. In: KLOPSTER PE, WILSON PD (eds). Human limbs and their substitutes. McGraw Hills, New York.
15. ALEXANDER R McN (1995). Simple models of human movements. *Applied Mechanics Reviews* (48): 461-70.
16. GIL-AGUDO A, PÉREZ-RIZO E, DEL AMA-ESPINOSA A, CRESPO-RUIZ B, PÉREZ-NOMBELA S, SÁNCHEZ-RAMOS A (2009). Comparative biomechanical gait analysis of patients with central cord syndrome walking with one crutch and two crutches. *Clin Biomech* 24: 551–557.
17. GIL-AGUDO A, DEL-AMA-ESPINOSA A, PÉREZ-RIZO E, PÉREZ-NOMBELA S, RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ LP (2010). Upper limb joint kinetics during manual wheelchair propulsion in patients with different levels of spinal cord injury. *J Biomech* 43:2508-2515.
18. WREN TA, GORTON GE 3<sup>th</sup>, OUNPUU S, TUCKER CA (2011). Efficacy of clinical gait analysis: A systematic review. *Gait posture* 34:149-53.
19. COHEN AH, GANS C (1975). Muscle activity in rat locomotion: Movement analysis and electromyography of the flexors and extensors of the elbow. *J Morph* 146: 177-96.
20. BROTON J, NIKOLIC Z, SUYS S, CALANCIE B (1996). Kinematic analysis of limb position during quadrupedal locomotion in rats. *J Neurotrauma* 13: 409 – 416.
21. MUIR GD, WHISHAW IQ (2000). Red nucleus lesions impaired overground locomotion in rats: A kinetic analysis. *Eur J Neurosci* 12: 1113 – 22.
22. WEBB A, MUIR G. Compensatory locomotor adjustments of rats with cervical or thoracic spinal cord hemisections. *J Neurotrauma* 2002 (19): 239 – 256.
23. THOTA AK, CARLSON WATSON S, KNAPP E, THOMPSON B, JUNG R (2005). Neuromechanical Control of Locomotion in the Rat. *J Neurotrauma* 22: 442-65.
24. FILLI L, ZÖRNER B, WEINMANN O, SCHWAB ME (2011). Motor deficits and recovery in rats with unilateral spinal cord hemisection mimic the Brown-Séquard syndrome. *Brain* 134:2261-2273.

25. GRILLNER S, ROSSIGNOL S (1978). On the initiation of the swing phase of locomotion in chronic spinal cats. *Brain Res* 146: 269 – 277.
26. DUYSSENS J, PEARSON K (1980). Inhibition of flexor burst generation by loading ankle extensors muscles in walking rats. *Brain Res* 187: 321 – 332.
27. LOVELY RG, GREGOR RG, ROY RR, EDGERTON VR (1986). Effects of training on the recovery of full-weight-bearing stepping in the adult spinal cat. *Exp Neurol* 92: 421 – 435.
28. GRILLNER S, WALLEN P (1985). Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrates. *Ann Rev Neurosci* 8: 233 - 261.
29. TIPLER P (1998). Physics for scientists and engineers (4<sup>th</sup> Ed) Vol. I. W.H. Freeman and Company. NY.
30. LANSHAMMAR H (1982). On practical evaluation of differentiation techniques for human gait analysis. *J Biomechanics* 15(2): 99-105.
31. WALKER JA (1998). Estimating velocities and accelerations of animal locomotion: a simulation experiment comparing numerical differentiation algorithms. *J Exp Biology* 201:981-95.
32. BRAMBLE DM, JENKINS FA (1993). Mammalian locomotor-respiratory integration: Implications for diaphragmatic and pulmonary design. *Science* 262:235-40.
33. GRAY J (1953). How animals move. Cambridge University Press, Cambridge.
34. ENDBERG I, LUNDBERG A (1969). An electromyographic analysis of muscular activity in the hindlimb of the cat during unrestrained locomotion. *Acta Physiol Scand* 75:614 – 630.
35. GOSLOW GE JR, REINKING RM, STUART DG (1973). The cat step cycle: Hind limb joint angles and muscle lengths during unrestrained locomotion. *J Morph* 141:1 - 42.
36. HOYT D, TAYLOR R (1981). Gait and the energetics of locomotion in horses. *Nature* 292:239 – 240.
37. HALBERTSMA JM (1983). The stride cycle of the cat: the modeling of locomotion by computerized analysis of automatic recordings. *Acta Physiol Scand (Suppl)* 521: 1 - 75.
38. CAVAGNA GA (1985). Force platforms as ergometers. *J Appl Physiol* 39:174-79.
39. LEE DV, BERTRAM JE, TODHUNTER RJ (1999). Acceleration and balance in trotting dogs. *J Exp Biol* 202:3565-3573.
40. PERRET C, CABELGUEN M (1980). Main characteristics of the hindlimb locomotor cycle in the decorticate cat with special reference to bifunctional muscles. *Brain Res* 187: 333 – 352.
41. PIEROTTI DJ, ROY RR, GREGOR RJ, EDGERTON VR (1989). Electromyographic activity of cat hindlimb flexors and extensors during locomotion at varying speeds and inclines. *Brain Res* 481:57 - 66.
42. CHAU C, BARBEAU H, ROSSIGNOL S (1998). Early locomotor training with clonidine in spinal cats. *J Neurophysiol* 79: 392 – 409.
43. LIEBER R (2002). Skeletal muscle structure, function and plasticity. Lippincott Williams & Wilkins.
44. SCHOLLE HCH, SCHUMANN NP, BIEDERMANN F, STEGEMAN DF, GRABME R, ROELEVELD K, SCHILLING N, FISCHER MS (2001) Spatiotemporal surface EMG characteristics from rat triceps brachii muscle during treadmill locomotion indicate selective recruitment of functionally distinct muscle regions. *Exp Brain Res* 138:26-36
45. ALSTERMARK B, SASAKI E (1983). Electromyographic activity in fast and slow elbow extensors during a visually guided forelimb movements in cats. *Brain Res Jan* 17;259(1):155-8.
46. CARROLL AM, LEE DV, BIEWENER AA (2008). Differential muscle function between muscle synergists: long and lateral heads of the triceps in jumping and landing goats (*Capra hircus*). *J Appl Physiol* 105:1262-1273.
47. CARROLL AM, LEE DV, BIEWENER AA (2009). Mono- versus biarticular muscle function in relation to speed and gait changes: in vivo analysis of the goat triceps brachii. *J Exp Biology* 212:3349-3360.
48. LORAM ID, MAGANARIS CN, LAKIE M (2006). Use of ultrasound to make non-invasive in vitro measurement of continuous changes in human muscle contractile length. *J Appl Physiol* 100:1311-23.
49. DE LEON R, HODGSON J, ROY R, EDGERTON R (1994). Extensor- and flexor-like modulation within motor pools of the rat hindlimb during treadmill locomotion and swimming. *Brain Res* 654: 241 – 250.
50. PERRET C, CABELGUEN M (1976). Central and reflex participation in the timing of locomotor activations of a bifunctional muscle, the semi-tendinosus, in the cat. *Brain Res* 106:390 - 395.

51. WALMSLEY B, HODGSON JA, BURKE RE (1978). Forces produced by medial gastrocnemius and soleus muscles during locomotion in freely moving cats. *J Neurophysiol* 41: 1203 – 1216.
52. ENGLISH AW, WOLF SL, SEGAL RL (1993). Compartmentalization of Muscles and Their Motor Nuclei: The Partitioning Hypothesis. *Physical Therapy* 12: 857 - 867.
53. D'AOÛT K, VEREECKE E, SCHOONAERT K, DE CLERCQ D, VAN ELSACKER L, AERTS P (2004). Locomotion in bonobos (*Pan paniscus*): differences and similarities between bipedal and quadrupedal terrestrial walking, and a comparison with other locomotor modes. *J Anat* 204:353–361.
54. PREUSCHOFT H (2004). Mechanisms for the acquisition of habitual bipedality: are there biomechanical reasons for the acquisition of upright bipedal posture? *J Anat* 204:363–384.
55. WHISHAW IQ, TRAVIS SG, KOPPE SW, SACREY LA (2010). Hand shaping in the rat: Conserved release and collection versus flexible manipulation in overground walking, ladder rung walking cylinder exploration and skilled reaching. *Behav Brain Res* 206:21-31.
56. HESSE S, SCHMIDT H, WERNER C, BARDELEBEN A (2003). Upper and lower extremity robotic devices for rehabilitation and for studying motor control. *Curr Opin Neurol* 16:705-10.
57. GIL-AGUDO A, DEL-AMA-ESPINOSA A, DE-LOS-REYES-GUZMÁN A, BERNAL-SAHÚN A, ROCÓN E (2011) *Applications of upper limb biomechanical models in spinal cord injury patients*. In: Biomechanics in Applications. Ed. Klika V, pp127-164. Rijeka: InTech.
58. SCOTT SH, DUKELOW SP (2011). Potential of robots as next-generation technology for clinical assessment of neurological disorders and upper-limb therapy. *J Rehabil Res Dev* 48:335-53.
59. STRATTON P, MILFORD M, WYETH G, WILES J (2011). Using Strategic Movement to Calibrate a Neural Compass: A Spiking Network for Tracking Head Direction in Rats and Robots. *PloS ONE*, 6 (10):e25687.
60. SONG W, GISZTER SF (2011). Adaptation to a cortex-controlled robot attached at the pelvis and engaged during locomotion in rats. *J Neurosci* 31:3110-28.
61. HORCH K, DHILLON GS (2004). Neuroprosthetics, theory and practice. Ed. World Scientific, New Jersey-London.
62. DUFOUR M, PILLU M (2006). Biomecánica funcional. Ed. Masson, Barcelona, p: 56-60.
63. MIRALLES RC, PUIG, M (1998). *El sistema muscular*. En: MIRALLES MARRERO RC (Ed). Biomecánica clínica del aparato locomotor. Ed. Masson, Barcelona, p: 61-74.
64. ENOKA RM, FUGLEVAND AJ (2001). Motor unit physiology: some unresolved issues. *Muscle & Nerve*. 24: 4 - 17.
65. DUCHATEAU J, SEMMLER JG, ENOKA RM (2006). Training adaptations in the behavior of human motor units. *J Appl Physiol* 101:1766-75.
66. BURKE RE, LEVINE DN, TSAIRIS P, ZAJAC FE (1973). Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius. *J Physiol* 234: 723 - 748.
67. HENNEMAN E (1957). Relation between size of neurons and their susceptibility to discharge. *Science* 126: 1345 – 1347.
68. HENNEMAN E, SOMJEN G, CARPENTER DO (1965). Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 28: 560 - 580.
69. HENNEMAN E, CLAMANN HP, GILLIES JD, SKINNER RD (1974). Rank order of motoneurons within a pool: law of combination. *J Neurophysiol* 37:1338-49.
70. HENNEMAN E (1985). The size-principle: A deterministic output emerges from a set of probabilistic connections. *J Exp Biol*. 115: 105-112.
71. CALANCIE B, BAWA P (1985a). Firing patterns of human flexor carpi radialis motor units during the stretch reflex. *J Neurophysiol* 53:1179-93.
72. CALANCIE B, BAWA P (1985b). Voluntary and reflexive recruitment of flexor carpi radialis motor units in humans. *J Neurophysiol* 53:1194-200.
73. PASTOR AM, GONZÁLEZ-FORERO D (2003). Recruitment Order of Cat Abducens Motoneurons and Internuclear Neurons. *J Neurophysiol* 90: 2240-52.
74. SOKOLOFF AJ, SIEGEL SG, COPE TC (1999). Recruitment Order among Motoneurons from Different Motor Nuclei. *J Neurophysiol* 8:2485-2492.
75. OTTENHEIJM C, GRANZIER H (2010). New Insights into the Structural Roles of Nebulin in Skeletal Muscle. *J. Biomed Biotech* doi:10.1155/2010/968139.
76. WALKER ML, BURGESS SA, SELLERS JR, WANG F, HAMMER III JA, TRINICK J, KNIGHT PJ (2000). Two-headed Binding of a Processive Myosin to F-actin. *Nature* 405: 804-807.
77. BERG JM, TYMOCZKO JL, STRYER L (2008). Bioquímica. Ed. Reverté, 6ª edición, Barcelona.
78. TREW M, EVERETT T (2006). Fundamentos del movimiento humano. Ed. Masson, Barcelona.

79. WATRAS JM (2009). *Fisiología del músculo esquelético*. En: KOEPPE BM, STANTON BA (Eds). *Fisiología*. Ed. Elsevier Mosby, Barcelona, p. 233-255.
80. SHERRINGTON CS (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. *J Physiol* 40: 28 - 121.
81. SHERRINGTON CS (1925). Remarks on some aspects of reflex inhibition. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* B97:19-45.
82. DESMEDT JE, GODAUX E (1978). Ballistic contractions in fast and slow human muscles: discharge patterns of single motor units. *J Physiol* 285: 185-196.
83. VAN CUTSEM M, DUCHATEAU J (2005). Preceding muscle activity influences motor unit discharge and rate of torque development during ballistic contractions in humans. *J Physiol* 562: 635-44.
84. SEMMLER JG, SALE MV, MEYER FJ, NORDSTROM MA (2004). Motor unit coherence and its relation with synchrony are influenced by training. *J Neurophysiol* 92: 3320-31.
85. MORITZ CT, BARRY BK, PASCOE MA, ENOKA RM (2005). Discharge rate variability influences de variation of force fluctuation across the working range of the hand muscles. *J Neurophysiol* 93: 2449-59.
86. MENDELL LM, JOHNSON RD, MUNSON JB (1999). Neurotrophin modulation of the monosynaptic reflex after peripheral nerve transection. *J Neurosci* 19:3162-70.
87. ISHIHARA A, YAMASHIRO J, MATSUMOTO A, HIGASHIBATA A, ISHIOKA N, SHIMAZU T, OHIRA Y (2006). Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rat spinal cord after spaceflight and recovery. *Neurochem Res* 31:: 411 - 415.
88. WELLS S, CONRAN JG, TAMME R, GAUDIN A, WEBB J, LARDELLI M (2010). Cryptic organisation within an apparently irregular rostrocaudal distribution of interneurons in the embryonic zebrafish spinal cord. *Exp Cell Res* 316:3292-303.
89. KANNING KC, KAPLAN A, HENDERSON CE (2010). Motor neuron diversity in development and disease. *Annu Rev Neurosci* 33:409-440.
90. KOEPPE BM, STANTON BA (Eds). *Fisiología*. Ed. Elsevier Mosby, Barcelona-255.
91. PETER JB, BARNARD RJ, EDGERTON VR, GILLESPIE CA, STEMPEL KE (1972). Metabolic profiles on three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 11: 2627 - 2733.
92. GRAMSBERGEN A (2005). Postural control in man: the phylogenetic perspective. *Neural Plast* 12: 77 - 88; discussion 263 - 72.
93. BOTTINELLI R, REGGIANI C (2000). Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. *Prog Biophys Mol Biol* 73: 195 - 262.
94. JOHNSON MA, SIDERI G, WEIGHTMAN D, APPLETON D (1973). A comparison of fibre size, fibre type constitution and spatial fibre type distribution in normal human muscle and in muscle from cases of spinal muscular atrophy and from other neuromuscular disorders. *J Neurol Sci* 20: 345 - 361.
95. LOU F, CURTIN NA, WOLEDGE RC (1997). The energy cost of activation of white muscle fibers from the dogfish "Scyliorhinus canicula". *J Exp Biology* 200:495-501.
96. MAGANARIS CN, BALTZOPOULOS V, SARGEANT AJ (1998). In vivo measurements of the triceps surae architecture in man: implication of muscle function. *J Physiol* 512.2: 603-14.
97. ALEXANDER R McN (1997). A minimum energy cost hypothesis for human arm movements. *Biol Cybernetics* 76: 97-105.
98. GHEZ C (1991). *The control of movement*. In: KANDEL ER, SCHWARTZ JH, JESSELL T (Eds). *Principles of Neural Science*. (3<sup>th</sup> Ed). Elsevier Science Publishing Co., NY. 533 – 547.
99. REXED B (1952). The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* 96: 414-95.
100. REXED B (1954). A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* 100: 297-379.
101. ARMENGOLD JA (1998). *Centros y vías nerviosas I. Médula espinal, tronco del encéfalo y cerebelo*. En: DELGADO JM, FERRUS A, MORA F, RUBIA FJ (Eds). *Manual de Neurociencia*. Ed. Síntesis SA, Madrid, p. 360-92.
102. HOLSTEGE JC (1991). Ultrastructural evidence for GABAergic brain stem projections to spinal motoneurons in the rat. *J Neurosci* 11:159-67.
103. PETKÓ M, ANTAL M (2000). Propriospinal afferent and efferent connections of the lateral and medial areas of the dorsal horn (laminae I-IV) in the rat lumbar spinal cord. *J Comp Neurol* 422(2): 312 - 325.

104. STANDRING S (2009). New focus on anatomy for surgical trainees. *ANZ J Surg* 79:114-117.
105. TRACEY DJ (2004). *Ascending and descending pathways in the spinal cord*. En: PAXINOS G (Ed). The rat nervous system. Ed. Elsevier, San Diego, p. 149-64.
106. CROSSMAN AR, NEARY D (2000). Neuroanatomy. Ed. Churchill Livingstone, Manchester.
107. MATSUSHITA M, HOSOYA Y (1979). Cells of origin of the spinocerebellar tract in the rats studied with the method of retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Res* 173:185-200.
108. BOSCO G, POPPELE RE, EIAN J (2000). Reference frames of Spinal proprioception: Limb endpoint based or joint-level based? *J Neurophysiol* 83:2931-45.
109. SWENSON RS, CASTRO AJ (1983). The afferent connections of the inferior olivary complex in rats: An anterograde study using autoradiographic and axonal degeneration techniques. *Neuroscience* 8:259-75.
110. CARPENTER MB (1994). Neuroanatomía, fundamentos. Ed. Panamericana, Buenos Aires, 4ª edición.
111. RUBIA FJ (1998). *Control cortical y de los ganglios basales del movimiento*. En: DELGADO JM, FERRÚS A, MORA F, RUBIA FJ. Manual de Neurociencia. Ed. Síntesis SA, Madrid, p. 715-30.
112. MILLER MW (1987). The origin of corticospinal projection neurons in rat. *Exp Brain Res* 67:339-51.
113. LI YS, MILNER PG, CHAUHAN AK, WATSON MA, HOFFMAN RM, KODNER CM, MILBRANDT J, DEUEL TF (1990). Cloning and expression of a developmentally regulated protein that induces mitogenic and neurite outgrowth activity. *Science* 250:1690-4.
114. HURLEY KM, HERBERT H, MOGA MM, SAPER CB (1991). Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *J Comp Neurol* 308:249-76.
115. ARMAND J (1982). The origin, course and terminations of corticospinal fibers in various mammals. *Prog Brain Res* 57:329-60.
116. NOBACK CR, STROMINGER NL, DEMAREST RJ, RUGGIERO DA (2005). The Human Nervous System. Structure and Function. Humana Press, New York.
117. LEVI A, TATOR CH, BUNGE RP (1996). Clinical Syndromes Associated with Disproportionate Weakness of the Upper versus the Lower Extremities after Cervical Spinal Cord Injury. *Neurosurgery* 38:179-185.
118. HEFFNER RS, MASTERTON RB (1983). The role of the corticospinal tract in the evolution of human digital dexterity. *Brain Behav evol* 23:165-83.
119. ISA T, OHKI Y, ALSTERMARK B, PETTERSON LG, SASAKI S (2007). Direct and Indirect Corticomotoneuronal Pathways and Control of Hand/Arm Movements. *Physiology* 22:145-53.
120. LIANG FY, MORET V, WIESENDANGER M, ROUILLER EM (1991). Corticomotoneuronal connections in the rat: evidence from double-labeling of motoneurons and corticospinal axon arborizations. *J Comp Neurol* 311:356-66.
121. BAREYRE FM, KERSCHENSTEINER M, MISGELD T, SANES JR (2005). Transgenic labeling of the corticospinal tract for monitoring axonal responses to spinal cord injury. *Nat Med* 11:1355-60.
122. ALSTERMARK B, OGAWA J, ISA T (2004). Lack of Monosynaptic Corticomotoneuronal EPSPs in Rats: Dysynaptic EPSPs Mediated via Reticulospinal Neurons and Polysynaptic EPSPs via Segmental Interneurons. *J Neurophysiol* 91: 1832-39.
123. ANTAL M, SHOLOMENKO GN, MOSCHOVAKIS AK, STORM-MATHISEN J, HEIZMANN CW, HUNZIKER W (1992). The termination pattern and postsynaptic targets of rubrospinal fibers in the rat spinal cord: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 325:22-37.
124. LAKKE EA, MARANI E (1991). Prenatal descent of rubrospinal fibers through the spinal cord of the rat. *J Comp Neurol* 314:67-78.
125. DANIEL H, BILLARD JM, ANGAUT P, BATINI C (1987). The interposito-rubrospinal system. Anatomical tracing of a motor control pathway in the rat. *Neurosci Res* 5:87-112.
126. STROMINGER RN, MCGIFFEN JE, STROMINGER NL (1987). Morphometric and experimental studies of the red nucleus in the albino rat. *Anat Rec* 219:420-8.
127. CAVADA C, HUISMAN AM, KUYPERS H (1984). Retrograde Double Labeling of Neurons: the Combined Use of Horseradish Peroxidase and Diamidino Yellow Dihydrochloride (DY-2HCl) Compared with True Blue and DY-2HCl in Rat Descending Brainstem Pathways. *Brain Research* 308:123-36.
128. WHISHAW IQ, GORNY B, SARNA J (1998). Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat: Behavioral and anatomical dissociations. *Behav Brain Res* 93:167-83.

129. MUIR GD, WHISHAW IQ (1999). Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions: measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats. *Behav Brain Res* 103: 45 – 53.
130. YASUI Y, ONO K, TSUMORI T, YOKOTA S, KISHI T (1998). Tectal projections to the parvocellular reticular formation and the upper cervical spinal cord in the rat, with special reference to axon collateral innervation. *Brain Res* 804:149-54.
131. MURRAY EA, COULTER JD (1982). Organization of tectospinal neurons in the cat and rat superior colliculus. *Brain Res* 243:201-14.
132. GARCÍA-RILL E (1986). The basal ganglia and the locomotor regions. *Brain Res Rev* 11: 47 – 63.
133. SHIK M, SEVERIN F, ORLOVSKY G (1966). Control of walking and running by means of stimulation of the mid-brain. *Biophysics* 11: 756 – 765.
134. GARCÍA-RILL E y SKINNER R (1987a). The mesencephalic locomotor region I. Activation of a medullary projection site. *Brain Res* 411: 1 – 12.
135. ORLOVSKY G (1970). Connexion of the reticulo-spinal neurons with the “locomotor sections” of the brain stem. *Biophysics* 15: 178 – 186.
136. STEEVES J, JORDAN L (1980). Localization of a descending pathway in the spinal cord which is necessary for controlled treadmill locomotion. *Neurosci Lett* 20: 283 – 288.
137. GARCÍA-RILL E y SKINNER R (1987b). The mesencephalic locomotor region. II. Projections to reticulospinal neurons. *Brain Res* 411: 13 – 20.
138. NOGA B, KRIELLAARS D, JORDAN L (1991). The effect of selective brainstem or spinal cord lesions on treadmill locomotion evoked by stimulation of the mesencephalic or pontomedullary locomotor regions. *J Neurosci* 11: 1691 – 1700.
139. HOLSTEGE G, KERSTENS L, MOES MC, VANDERHORST VG (1987). Evidence for a periaqueductal gray-nucleus retroambiguus-spinal cord pathway in the rat. *Neuroscience* 80:587-98.
140. HARDING DI, GREENSMITH L, VRBOVÁ G (1999). Stabilizing neuromuscular contacts reduces motoneuron death caused by paralysis of muscles in neonatal rats. *Neurosci* 93: 1141 – 1146.
141. LOVICK TA (1997). The medullary raphe nuclei: a system for integration and gain control in autonomic and somatomotor responsiveness? *Exp Physiol* 82:31-41.
142. BANKOUL S, NEUHUBER WL (1992). A direct projection from the medial vestibular nucleus to the cervical spinal dorsal horn of the rat, as demonstrated by anterograde and retrograde tracing. *Anat Embryol (Berl)* 185:77-85.
143. MASSON RL JR, SPARKES ML, RITZ LA (1991). Descending projections to the rat sacrocaudal spinal cord. *J Comp Neurol* 307:120-30.
144. LEONG SK, SHIEH JY, WONG WC (1984). Localizing spinal-cord-projecting neurons in neonatal and immature albino rats. *J Comp Neurol* 228:18-23.
145. GORSKA T, BEM T, MAJCZYNSKI H (1990). Locomotion in cats with ventral spinal lesions: support patterns and duration of support phases during unrestrained walking. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* 50: 191–200.
146. CHUNG K, COGGESHALL RE (1983). Propriospinal fibers in the rat. *J Comp Neurol* 217:47-53.
147. CHUNG K, LANGFORD LA, COGGESHALL RE (1987). Primary afferent and propriospinal fibers in the rat dorsal and dorsolateral funiculi. *J Comp Neurol* 263:68-75.
148. ALSTERMARK B, SASAKI S (1986) Integration in descending motor pathways controlling the forelimb in the cat 15. Comparison of the projection from excitatory C3-C4 propriospinal neurons to different species of forelimb motoneurons. *Exp Brain Res* 63:543-556.
149. LUNDBERG A (1999). Descending control of forelimb movements in the cat. *Brain Res Bull* 50: 323 - 324.
150. PAUVERT V, PIERROT-DESEILLIGNY E, ROTHWELL JC (1998). Role of spinal premotoneurons in mediating corticospinal input to forearm motoneurons in man. *J Physiol* 508: 301 - 312.
151. BALDISSERA F, CAVALLARI P, FOURNIER E, PIERROT-DESEILLIGNY E, SHINDO M (1987). Evidence for mutual inhibition of opposite Ia interneurons in the human upper limb. *Exp Brain Res* 66: 106 - 114.
152. ALSTERMARK B, LUNDBERG A, NORRSELL U AND SYBIRSKA E (1981). Integration in descending motor pathways controlling the forelimb in the cat. 9. Differential behavioral defects after spinal cord lesions interrupting defined pathways from higher centres to motoneurons. *Exp Brain Res* 42:299–318.
153. BROWN TG (1911). The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proc Roy Soc B* 84: 308 – 319.
154. GRILLNER S, ZANGGER P (1984). The effect of dorsal root transection on the efferent motor pattern in the cat's hindlimb during locomotion. *Acta Physiol Scand* 120: 393–405.



- 155.EIDELBERG E, WALDEN JG, NGUYEN H (1981). Locomotor control in macaque monkeys. *Brain* 104: 647 – 663.
- 156.DUYSENS J, CLARAC F, CRUSE H (2000). Load-regulating mechanisms in gait and posture: comparative aspects. *Physiological Reviews* 80:83-132.
- 157.DUYSENS J, TAX AAM, VAN DER DOELEN B, TRIPPEL M, DIETZ V (1991). Selective activation of human soleus or gastrocnemius in reflex responses during walking and running. *Exp Brain Res* 87: 193–22.
- 158.DIETZ V, DUYSENS J (2000). Significance of load receptor input during locomotion: a review. *Gait Posture* 11:102-10.
- 159.DIETZ V, NOTH J, SCHMIDTBLEICHER D (1981). Interaction between pre-activity and stretch reflex in human triceps brachii during landing from forward falls. *J Physiol* 311:113–125.
- 160.PEARSON KG (1993). Common principles of motor control in vertebrates and invertebrates. *Annu Rev Neurosci* 16: 265–297.
- 161.JANKOWSKA E, JUKES MG, LUND S, LUNDBERG A (1967). The effect of L-DOPA on the spinal cord. 6. Half-center organization of interneurons transmitting effects from the flexor reflex afferents. *Acta Physiol Scand* 70:389-402.
- 162.HARKEMA SJ, HURLEY SL, PATEL UK, REQUEJO PS, DOBKIN BH, EDGERTON VR (1997). Human lumbosacral spinal cord interprets loading during stepping. *J Neurophysiol* 77:797-811.
- 163.DIETZ V, WIRZ M, CURT A, COLOMBO G (1998). Locomotor pattern in paraplegic patients: training effects and recovery of spinal cord function. *Spinal Cord* 36:380-90.
- 164.EDGERTON VR, DE LEON R, HARKEMA S, HODGSON J, LONDON N, REINKENSMAYER D, ROY R, TALMADGE R, TILLAKARATNE N, TIMOSZYK W, TOBIN A (2001). Retraining the injured spinal cord. *J Physiol* 533: 15 – 22.
- 165.DIETZ V (2003). Spinal cord pattern generators for locomotion. *Clin Neurophysiol* 114:1379-89.
- 166.ALCOBENDAS M, LÓPEZ-DOLADO E, ESCLARÍN A, VALDIZÁN MC (2004). Entrenamiento de la marcha en lesiones medulares incompletas con descarga del peso corporal. *Rev Neurol* 39:405-10.
- 167.DIETZ V (2009). Body weight supported gait training: from laboratory to clinical setting. *Brain Res Bull* 78:i-vi.
- 168.DREW T, ROSSIGNOL S (1987). A kinematic and electromyographic study of cutaneous reflexes evoked from the forelimb of unrestrained walking cats. *J Neurophysiol* 57: 1160–1184.
- 169.PEARSON KG, COLLINS DF (1993). Reversal of the influence of group Ib afferents from plantaris on activity in medial gastrocnemius muscle during locomotor activity. *J Neurophysiol* 70: 1009–1017.
- 170.DIMITRIJEVIC MR, McKAY WB, SHERWOOD AM (1997). Motor Control Physiology Below the Spinal Cord Injury: Residual Volitional Control of Motor Units in Paretic and Paralyzed Muscles. *Adv Neurol* 72:335-45.
- 171.DUYSENS J, PEARSON KG (1999). From cat to man: basic aspects of locomotion relevant to motor rehabilitation. *Neurorehabilitation* 10: 107–118.
- 172.GRILLNER S (1972). The role of muscle stiffness in meeting the changing postural and locomotor requirements for force development by the ankle extensors. *Acta Physiol Scand* 86: 92–108.
- 173.TUBBS RS, SALTER EG, OAKES WJ (2006). Triceps brachii muscle demonstrating a four head. *Clin Anat* 19:657-660.
- 174.WATSON JC, WILSON AM (2007). Muscle architecture of biceps brachii, triceps brachii and supraspinatus in the horse. *J Anat* 210: 32-40.
- 175.LUCAS-OSMA AM, COLLAZOS-CASTRO JE (2009).Compartmentalization in the Triceps Brachii Motoneuron Nucleus and its Relation to Muscle Architecture. *J Comp Neurol* 516: 226-39.
- 176.FISCHER MS. (1999) Kinematics, EMG, and Inverse Dynamics of the Terrina Forelimb. A Synthetic Approach. *Zool Anz* 238: 41-54.
- 177.FISCHER MS (2001). Locomotory organs of Mammals: New mechanics and feed-back pathways but conservative central control. *Zoology* 103: 230 – 239.
- 178.FISCHER MS, SCHILLING N, SCHMIDT M, HAARHAUS D, WITTE H (2002). Basic limb kinematics of small therian mammals. *J Exp Biol* 205: 1315 – 1338.
- 179.SCHOLLE HCH, SCHUMANN NP, BIEDERMANN F, STEGEMAN DF, GRABME R, ROELEVELD K, SCHILLING N, FISCHER MS (2001) Spatiotemporal surface EMG characteristics from rat triceps brachii muscle during treadmill locomotion indicate selective recruitment of functionally distinct muscle regions. *Exp Brain Res* 138:26-36.
- 180.MURRAY WM, DELP SL, BUCHANAN TS (1995). Variation of muscle moment arms with elbow and forearm position. *J Biomech* 28: 513-25.

- 181.FUJIWARA S, ENDO H, HUTCHINSON JR (2011). Topsy-turvy locomotion: biomechanical specializations of the elbow in suspended quadrupeds reflect inverted gravitational constraints. *J Anat* 219: 176-91.
- 182.MCKENNA JE, PRUSKY GT, WHISHAW IQ (2000). Cervical Motoneuron Topography Reflects the Proximodistal Organization of Muscles and Movements of the Rat Forelimb; A Retrograde Carbocyanine Dye Analysis. *The J. Comp Neurol* 419: 286-296.
- 183.COLLAZOS-CASTRO JE, SOTO VM, GUTIERREZ-DAVILA M, NIETO-SAMPEDRO M (2005). Motoneuron loss associated with chronic locomotion impairments after spinal cord contusion in the rat. *J. Neurotrauma* 22: 544-558.
- 184.D'AVELLA A, PORTONE A, FERNANDEZ L, LACQUANITI F (2006) Control of fast-reaching movements by muscle synergy combinations. *J Neurosci* 26: 7791-810.
- 185.CHANAUD CM, PRATT CA, LOEB GE (1991). Functionally complex muscles of the cat hindlimb. II. Mechanical and architectural heterogeneity within the biceps femoris. *Exp Brain Res* 85: 257 - 270.
- 186.KEEN DA, FUGLEVAND AJ (2004). Common input to motor neurons innervating the same and different compartments of the human extensor digitorum muscle. *J Neurophysiol* 91: 57 - 62.
- 187.GALLAGHER S, POLLARD J, PORTER WL (2010). Locomotion in restricted space: kinematic and electromyographic analysis of stoopwalking and crawling. *Gait Posture* 33:71-6.
- 188.NSCISC (2011). Spinal Cord Injury Facts and Figures at a Glance. <https://www.nscisc.uab.edu>.
- 189.CURT A, DIETZ V (1996). Neurographic assessment of intramedullary motoneuron lesions in cervical spinal cord injury: consequences for hand function. *Spinal Cord* 34: 326 - 332.
- 190.THOMAS C, ZAIDNER E, CALANCIE B, BROTON J, BIGLAND-RITCHIE B (1997) Muscle weakness, paralysis, and atrophy after human cervical spinal cord injury. *Exp Neurol* 148:414-423.
- 191.KIRSHBLUM S; DONOVAN W.H. (2002); Neurologic Assessment and Classification of Traumatic Spinal Cord Injury. In: KIRSHBLUM S.; CAMPAGNOLO D.I.; DeLISA J.; *Spinal Cord Medicine, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia*: 82- 95.
- 192.KANAGAL SG, MUIR GD (2009). Task-dependent compensation after pyramidal tract and dorsolateral spinal lesions in rats. *Exp Neurol* 216:193-206.
- 193.KIRSHBLUM SC, BURNS SP, BIERING-SORENSEN F, DONOVAN W, GRAVES DE, JHA A, JOHANSEN M, JONES L, KRASSIOUKOV A, MULCAHEY MJ, SCHMIDT-READ M, WARING W (2011). International standards for neurological classification of spinal cord injury (Revised 2011). *J Spinal Cord Med* 34: 535-46.
- 194.KIRSHBLUM SC, WARING W, BIERING-SORENSEN F, BURNS SP, JOHANSEN M, SCHMIDT-READ M, DONOVAN W, GRAVESD, JHA A, JONESL, MULCAHEY MJ, KRASSIOUKOV A (2011). Reference for the 2011 revision of the International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury. *J Spinal Cord Med* 34: 547-54.
- 195.CENCI MA (2002). Transcription factors involved in the pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Amino Acids* 23:105-9.
- 196.YAKOVENKO S, MUSHAHWAR V, VANDERHORST V, HOLSTEGE G, PROCHAZKA A (2002): Spatiotemporal activation of lumbosacral motoneurons in the locomotor step cycle. *J Neurophysiol* 87: 1542 – 1553.
- 197.IVANENKO YP, GRASSO R, AND LACQUANITI F (2000). Neck muscle vibration makes walking humans accelerate in the direction of gaze. *J Physiol* 525: 803-814.
- 198.CAPADAY C (2002). The special nature of human walking and its neural control. *Trends Neurosci* 25: 370-376.
- 199.DIETZ V (2002). Proprioception and locomotor disorders. *Nat Rev Neurosci* 3: 781- 790.
- 200.IVANENKO YP, POPPELE RE, LACQUANITI F (2006). Spinal Cord Maps of Spatiotemporal Alpha-Motoneuron Activation in Humans Walking at Different Speeds. *J Neurophysiol* 95: 602-618.
- 201.PIERROT-DESEILLIGNY E, BURKE D (2005). The Circuitry of the Human Spinal Cord. Its Role in Motor Control and Movement Disorders. Cambridge University Press, Cambridge.
- 202.BURKE RE (2001). Clinical relevance of the putative C-3-4 propriospinal system in humans. *Muscle Nerve* 24:1437-9
- 203.ROTH EJ, PARK T, PANG T, YARKONY GM, LEE Y (1991). Traumatic Cervical Brown-Sequard and Brown-Sequard-plus Syndromes: The Spectrum of Presentations and Outcomes. *Paraplegia* 29: 582-589.
- 204.BROWN-SÉQUARD CE (1867). A medical work and medical errors. *BMJ* 9:251-257.
- 205.BROWN-SÉQUARD CE (1869). Lectures on the physiology and pathology of the nervous system and of the organic nervous affection: lecture II part 1. *Lancet*, i: 1-3.

206. TATTERSALL R, TURNER B (2000). Brown-Séquard and his syndrome. *Lancet* 356: 61–63.
207. FIRLIK AD, WELCH VC (1999). Images in clinical medicine. Brown-Séquard syndrome. *N Engl J Med* 340:285.
208. MARCHAND-PAUVERT V, NIELSEN JB (2002). Modulation of non-monosynaptic excitation from ankles dorsiflexor afferents to quadriceps motoneurons during human walking. *J Physiol* 538: 647 – 657.
209. KABALLO MA, BRENNAN DD, EL BASSIOUNI M, SKEHAN SJ, GUPTA RK (2011). Intramedullary spinal cord metastasis from colonic carcinoma presenting as Brown-Séquard syndrome: a case report. *J Med Case Reports* 5:342.
210. DITUNNO JF Jr, GRAZIANI V, TESSLER A (1997). Neurological Assessment in Spinal Cord Injury. *Adv Neurol* 72: 325-333.
211. MCKINLEY W, SANTOS K, MEADE M, BROOKE K (2007). Incidence and Outcomes of Spinal Cord Injury Clinical Syndromes. *J Spinal Cord Med* 30:215–224.
212. DITUNNO J, FLANDERS A, KIRSHBLUM S, GRAZIANI V, TESSLER A (2002). *Predicting outcome in traumatic spinal cord injury*. In: KIRSHBLUM S, CAMPAGNOLO D, DELISA J (Eds). *Spinal Cord Medicine*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, p.108–122.
213. LITTLE JW, HALAR E (1985). Temporal Course of Motor Recovery after Brown-Séquard Spinal Cord Injuries. *Paraplegia* 23: 39-46.
214. WEIDNER N, NER A, SALIMI N, TUSZYNSKI M (2001). Spontaneous corticospinal axonal plasticity and functional recovery after adult central nervous system injury. *PNAS* 98: 3513 – 3518.
215. ROSENZWEIG ES, COURTINE G, JINDRICH DL, BROCK JH, FERGUSON AR, STRAND SC, NOUT YS, ROY RR, MILLER DM, BEATTIE MS, HAVTON LA, BRESNAHAN JC, EDGERTON VR, TUSZYNSKI MH (2010) Extensive spontaneous plasticity of corticospinal projections after primate spinal cord injury. *Nat Neurosci* 13:1505-1510.
216. SHAWA AC, JACKSON AW, HOLMES T, THURMAN S, DAVIS GR, MCCLELLAN AD (2010). Descending brain neurons in larval lamprey: Spinal projection patterns and initiation of locomotion. *Exp Neurol* 224(2): 527–541.
217. BUCHANAN JT (2011). Spinal locomotor inputs to individually identified reticulospinal neurons in the lamprey. *J Neurophysiol* 106:2346-57.
218. MUIR GD, KATZ SL, GOSLIN JM, STEEVES JM (1998). Asymmetric bipedal locomotion- an adaptive response to incomplete spinal injury in the chick. *Exp Brain Res* 122:275-82.
219. GHOSH A, SYDEKUM E, HAISS F, PEDUZZI S, ZÖRNER B, SCHNEIDER R, BALTES C, RUDIN M, WEBER B, SCHWAB ME. (2009). Functional and anatomical reorganization of the sensory-motor cortex after incomplete spinal cord injury in adult rats. *J Neurosci* 29: 12210 - 12219.
220. EIDELBERG E, NGUYEN LH, POLICH R, WALDEN JG (1989). Transsynaptic degeneration of motoneurons caudal to spinal cord lesions. *Brain Res Bull* 22:39-45.
221. CHANG CW (1998). Evident transsynaptic degeneration of motor neurons after spinal cord injury: a study of neuromuscular jitter by axonal microstimulation. *Am J Phys Med Rehabil* 77, 118-121.
222. LUCAS-OSMA AM (2011). Anatomía de los circuitos neuronales que controlan el tríceps braquial y su modificación tras una lesión medular. Tesis doctoral, UAM.
223. JAYES AS, ALEXANDER R McN (1980). The gaits of chelonians: walking techniques for very low speeds. *J Zool (Lond)* 191: 353-378.
224. CAVAGNA GA, HEGLUND NC, TAYLOR CR (1977). Mechanical work in terrestrial locomotion: two basic mechanisms for minimizing energy expenditure. *Am J Physiol* 233:R243-R261.
225. BRUSTEIN E, ROSSIGNOL S (1998). Recovery of locomotion after ventral and ventrolateral spinal lesions in the cat. I. Deficits and adaptive mechanisms. *J Neurophysiol* 80:1245-1267.
226. MCKENNA JE, WHISHAW IA (1999). Complete compensation in skilled reaching success with associated impairments in limb synergies, after dorsal column lesion in the rat. *J Neurosci* 19:1885–1894.
227. ANDERSON KD, GUNAWAN A, STEWARD O (2007). Spinal pathways involved in the control of forelimb motor function in rats. *Exp Neurol* 206:318-331.
228. KANAGAL SG, MUIR GD (2008). Effects of combined dorsolateral and dorsal funicular lesions on sensorimotor behavior in rats. *Exp Neurol* 214: 229-39.
229. ZÖRNER B, FILLI L, STARKEY ML, GONZENBACH R, KASPER H, RÖTHLISBERGER M, BOLLIGER M, SCHWAB ME (2010). Profiling locomotor recovery: comprehensive quantification of impairments after CNS damage in rodents. *Nat Methods* 7:701-708.
230. LOVE S, LOUIS DN, ELLISON DW (2008). *Greenfield's Neuropathology*. 8<sup>th</sup> Edition. London, UK: Edward Arnold (Publishers) Ltd.
231. CURT A, DIETZ V (1996) Neurographic assessment of intramedullary motoneuron lesions in cervical spinal cord injury: consequences for hand function. *Spinal Cord* 34:326–332.

232. SCHUMANN NP, BIEDERMANN FHW, KLEINE BU, STEGEMAN DF, ROELEVELD K, HACKERT R, SCHOLLE HCh (2002). Multi-channel EMG of the M triceps brachii in rats during treadmill locomotion. *Clin Neurophysiol* 113: 1142-1151.
233. JUVIN L, SIMMERS J, DIDIER M (2005) Propriospinal circuitry underlying interlimb coordination in mammalian quadrupedal locomotion. *J Neurosci* 25:6025-6035.
234. COWLEY KC, ZAPORZHETS E, SCHMIDT BJ (2008). Propriospinal neurons are sufficient for bulbospinal transmission of the locomotor command signal in the neonatal rat spinal cord. *J Physiol* 586:1623-1635.
235. KATO M, MURAKAMI S, HIRAYAMA H, HIKINO K (1985) Recovery of postural control following chronic bilateral hemisections at different spinal cord levels in adult cats. *Exp Neurol* 90:350-364.
236. BAREYRE FM, KERSCHENSTEINER M, RAINETEAU O, METTENLEITER TC, WEINMANN O, SCHWAB ME (2004) The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci* 7:269-277.
237. BARRIÈRE G, LEBLOND H, PROVENCHER J, ROSSIGNOL S (2008) Prominent role of the spinal central pattern generator in the recovery of locomotion after partial spinal cord injuries. *J Neurosci* 28:3976-3987.
238. COURTINE G, SONG B, ROY RR, ZHONG H, HERRMANN JE, AO Y, QI J, EDGERTON VR, SOFRONIEW MV (2008) Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury. *Nat Med* 14:69-74.
239. GALLAGHER S, POLLARD J, PORTER WL (2011) Locomotion in restricted space: Kinematic and electromyographic analysis of stoopwalking and crawling. *Gait Posture* 33:71-76.
240. RAFUSE VF, GORSON T, OROZCO R (1992). Proportional enlargement of motor units after partial denervation of cat triceps surae muscles. *J Neurophysiol* 68: 1261 – 1276.
241. DITUNNO JF, LITTLE JW, TESSLER A, BURNS AS (2004). Neurological Spinal shock revisited: a four phase model. *Spinal cord* 42: 383-395.
242. BOLAND RA, LIN CS-Y, ENGEL S, KIERNAN M (2011). Adaptation of motor function after spinal cord injury: novel insights into spinal shock *Brain* 134:495-505.
243. FUJIWARA S, SAITO T, TIAN F, YAMAGUCHI T (2006). Firing patterns of rat vestibulospinal neurons during quadrupedal standing on a pitching platform. *J Physiol Sci* 56, 389-392.
244. LANGLET C, LEBLOND H, ROSSIGNOL S (2005). The mid-lumbar segments are needed for the expression of locomotion in chronic spinal cats. *J Neurophysiol* 93: 2474-2488.
245. WEBB AA, MUIR GD (2003). Unilateral dorsal column and rubrospinal tract injuries affect overground locomotion in the unrestrained rat. *Eur J Neurosci* 18:412-422.
246. WEBB AA, MUIR GD (2004). Course of motor recovery following ventrolateral spinal cord injury in the rat. *Behav Brain Res* 155:55-65.
247. PETTERSSON LG, ALSTERMARK B, BLAGOVECHTCHENSKI E, ISA T, SASASKI S (2007). Skilled digit movements in feline and primate--recovery after selective spinal cord lesions. *Acta Physiol (Oxf)* 189, 141-154.
248. MATSUYAMA K, DREW T (2000). Vestibulospinal and reticulospinal neuronal activity during locomotion in the intact cat. I. Walking on a level surface. *J Neurophysiol* 84:2237-2256.
249. LAVOIE S, DREW T (2002). Discharge characteristics of neurons in the red nucleus during voluntary gait modifications: a comparison with the motor cortex. *J Neurophysiol* 88:1791-1814.
250. KIRSHBLUM SC, GARSTANG S, MILLIS S (2001). Electrodiagnostic changes of the lower limbs in subjects with chronic complete cervical spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehab* 82:604-7.
251. LIN CS, MACEFIELD VG, ELAM M, WALLIN BG, ENGEL S, KIERNAN MC (2007). Axonal changes in spinal cord injury patients distal to the site of injury. *Brain* 130: 985-94.
252. BOLAND RA, BOSTOCK H, KIERNAN M (2009). Plasticity of lower limb motor axons after cervical cord injury. *Clin Neurophysiol* 120: 204-9.
253. HEBEL R, STROMBERG MW (1976). Anatomy of the Laboratory Rat. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
254. NISHIMURA Y, MORICHIKA Y, ISA T (2009). A subcortical oscillatory network contributes to recovery of hand dexterity after spinal cord injury. *Brain* 132:709-721.
255. SCHNEIDER R, THOMPSON J, BEBIN J (1958). The syndrome of acute central cervical spinal cord injury. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 21: 216 – 227.
256. LEVI A, TATOR C, BUNGE R (1996). Clinical syndromes associated with disproportionate weakness of the upper versus the lower extremities after cervical spinal cord injury. *Neurosurgery* 38: 179 – 185.

